

**Zur Differenzierung
der antiproteolytischen Aktivität
im menschlichen Harn**

Kurt Brettreich

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553810_0068

Aus dem Biochemischen Laboratorium der Hals-Nasen-Ohren-Klinik
der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. H. Naumann

Zur Differenzierung der antiproteolytischen Aktivität im
menschlichen Harn

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Kurt Brettreich
aus
München
1976



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Hochstrasser

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Naumann

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24.2.1977



Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

GLIEDERUNG

Seite

KAPITEL I

A.	Allgemeines über Proteaseninhibitoren	1
I.	Vorkommen und Bedeutung von Proteaseninhibitoren	1
II.	Wirkung und Wirkungsmechanismus von Proteaseninhibitoren	1
III.	Eigenschaften von Proteaseninhibitoren	2
	1. Molekulargewicht	2
	2. Chemische Struktur der Proteaseninhibitoren	2
	3. Hemmspektrum der Proteaseninhibitoren	2
IV.	Therapeutische Verwendung von Proteaseninhibitoren	3
	1. Beeinflussung von Blutgerinnungsstörungen durch Proteaseninhibitoren	3
	2. Anwendung von Proteaseninhibitoren in der Schocktherapie	3
	3. Proteaseninhibitoren in der Pankreatistherapie	3
V.	Spezielle Proteaseninhibitoren beim Menschen und ihre pathophysiologische Bedeutung	4
	1. Inhibitoren des menschlichen Serums	4
	2. Pathologische Bedeutung der Seruminhibitoren	5
	3. Inhibitoren der menschlichen Luftwege	5
	4. Pathophysiologische Bedeutung der Inhibitoren der menschlichen Lunge	6
	5. Inhibitoren des menschlichen Harns	6

KAPITEL II

B.	Theoretische Vorüberlegungen	8
I.	Die Permeabilität des Nierenfilters	8
II.	Proteinrückresorption im Tubulusapparat der Nieren	8
III.	Störungen der Nierenfunktion und damit verbundene Veränderungen der Harninhibitoren	9
IV.	Normalwerte der säurestabilen Inhibitoren und des alpha ₁ -Antitrypsins in Serum und Urin bei Nierengesunden	9

C.	Ergebnisse der Untersuchungen	10
D.	Diskussion der bisherigen Ergebnisse	16
E.	Tabellarische Aufstellung der Meßwerte	29
F.	Graphische Darstellungen	36

KAPITEL III

G.	Experimentieller Teil/Material und Methoden	45
I.	Material (Gewinnung des Untersuchungsmaterials)	45
II.	Methoden	45
1.	Definition der Inhibitoreinheit	45
2.	Der Trypsinhemmtest	46
a)	Prinzip	46
b)	Reagenzien	46
c)	Vorbereitung der Serum- und Harnproben	47
d)	Bestimmungsansatz für das Eppendorf-Photometer	47
e)	Meßvorgang	48
f)	Berechnungen	48
g)	Hemmkurve	49
3.	Immunologische Gewichtsbestimmung des Harn-alpha ₁ -Antitrypsins auf Partigenplatten (Behringwerke) nach der Methode von Mancini	50
a)	Prinzip	50
b)	Material	50
c)	Vorbereitung der Harnproben	51
d)	Beschicken der Platten	51
e)	Auswertung	52
f)	graphische Darstellung	52
g)	Berechnungen	53
4.	Berechnung der auf den niedermolekularen Inhibitor entfallenden Hemmkapazität (unter Zuhilfenahme der bei Trypsinhemmtest und Immundiffusionstest erhaltenen Ergebnisse)	53

A. Allgemeines über Proteaseninhibitoren

I. Vorkommen und Bedeutung von Proteaseninhibitoren

Das Vorkommen von Proteaseninhibitoren in verschiedenen tierischen und pflanzlichen Geweben ist seit Ende des 19. Jahrhunderts bekannt.¹⁾ Im Tierreich finden sich diese Hemmstoffe hauptsächlich in Drüsengeweben, Blutplasma und Urin. Im Pflanzenreich treten sie besonders im ruhenden Samen und in den als Speichergeweben fungierenden Sproßteilen in Erscheinung. Die physiologische Funktion der tierischen Inhibitoren wird allgemein in einer Hemmung gewebseigener proteolytischer Enzyme gesehen.

Die durch diese Inhibitoren hervorgerufene Aktivitätsminderung der proteolytischen Enzyme führt somit zu einer Anpassung an die biologischen Erfordernisse und schützt gegen autokatalytische Gewebszerstörung. Über die Funktion der pflanzlichen Proteaseninhibitoren ist noch nichts Definitives bekannt. Mansfeld sieht ihre Rolle in der Aufrechterhaltung latenter Lebensformen, ebenfalls durch Hemmung der Autolyse bedingt.²⁾ Wahrscheinlich besteht die physiologische Bedeutung der Pflanzenproteaseninhibitoren in einer Unterdrückung von Stoffwechselvorgängen im Gewebe während biologisch inaktiver Phasen. Ferner entwickelten verschiedene parasitäre Wurmarten Hemmstoffe gegen die proteolytischen Fermente der Wirtsorganismen, um einen Schutz vor Verdauung zu erwirken.³⁾

II. Wirkung und Wirkungsmechanismus von Proteaseninhibitoren

Sämtliche Stoffwechselreaktionen in der belebten Natur werden durch Enzyme katalysiert, deren Aktivität von der Geschwindigkeit ihrer Biosynthese, von allosterischen Reaktionen und von Milieufaktoren abhängig ist. Eine weitere Regulationsmöglichkeit der Enzymaktivität besteht in der Blockierung der Enzyme (Proteasen) durch Inhibitoren (Proteaseninhibitoren).

Die bei dieser Hemmung auftretenden Wechselwirkungen zwischen Enzym und Inhibitor werden durch die Bildung eines meist reversiblen Enzym-Inhibitor-Komplexes charakterisiert, in dem die aktiven Stellen der Fermente bedeckt oder von Molekülen einer bestimmten Größe durchdrungen werden.⁴⁾

Im Komplex ist dann die enzymatische Aktivität der Proteasen (Enzym) gegenüber seinen natürlichen und synthetischen Substraten ganz oder teilweise blockiert.

Im allgemeinen wird ihre Wirkung in einer zeitlichen und räumlichen Limitierung proteolytischer Vorgänge gesehen.¹⁾

III. Eigenschaften von Proteaseninhibitoren

1. Molekulargewicht

Aufgrund ihres Molekulargewichtes lassen sich die natürlichen Proteaseninhibitoren in verschiedene Gruppen einteilen: Solche mit relativ niedrigem Molekulargewicht (6000-12000), die säurestabil sind; höhermolekulare mit Molekulargewichten von 20000-80000, z.B. α_1 -Antitrypsin, und die hochmolekularen Inhibitoren des Serums mit Molekulargewichten bis zu 800000, z.B. α_2 -Makroglobulin.

2. Chemische Struktur der Proteaseninhibitoren

Ihrer chemischen Struktur nach sind Proteaseninhibitoren Polypeptide, Proteine oder Glykoproteine mit einem Kohlenhydratanteil bis zu 35%.

Die Trypsinhemmzentren der Inhibitoren werden durch Lys-X beziehungsweise Arg-X Bindungen im Molekül dargestellt. In letzter Zeit wurde in einem Hemmstoff aus der Glandula submandibularis des Hundes eine Meth-Asp Bindung als Chymotrypsinhemmzentrum identifiziert.⁵⁾

3. Hemmspektrum der Proteaseninhibitoren

Das Hemmspektrum der Proteaseninhibitoren ist sehr unterschiedlich.

Es existieren monovalente Inhibitoren, die streng spezifisch nur ein Enzym hemmen, und polyvalente, die entweder in einer 1:1 Reaktion jeweils verschiedene Enzyme oder bei sog. double

leadet Inhibitoren gleichzeitig zwei verschiedene Enzyme hemmen können.⁶⁾

IV. Therapeutische Verwendung von Proteaseninhibitoren

Für therapeutische Zwecke sind in der Bundesrepublik Deutschland mehrere Rinder-Inhibitorpräparate im Handel. Bevorzugte Anwendung findet ein unter dem Handelsnamen Trasylol^R eingeführtes Präparat, aufgrund seines spezifischen Hemmspektrums und seiner relativ geringen Nebenwirkungen.

1. Beeinflussung von Blutgerinnungsstörungen durch Proteasen-inhibitoren

Die von Blomböck und Mitarbeitern nachgewiesene Hemmung der Blutgerinnung durch Trasylol beruht auf einer Inhibierung der Bildung der Blut- und Gewebsthrombokinase und schließlich der Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin.⁷⁾ Daraus resultiert die Behandlung primärer und sekundärer Fibrin- beziehungsweise Gerinnungsdefizite mit Trasylol.

Im Gegensatz zu den synthetischen Fibrinolyseinhibitoren (zum Beispiel p-Aminomethylbenzoesäure, Tranexamsäure) hemmt Trasylol nicht nur die Aktivierung des Plasminogens zu Plasmin, sondern auch das aktive fibrinolytische Ferment Plasmin. Die therapeutische Anwendung von Trasylol bei primären und sekundären Hyperfibrinolyse findet damit seine Erklärung.

2. Anwendung von Proteaseninhibitoren in der Schocktherapie

Insbesondere bei Endotoxinschock und peritonealem Schock findet Trasylol therapeutische Verwendung. Der bei diesen Schockformen auftretende Blutdruckabfall, verbunden mit einer Kininogenverminderung im Blut, kommt durch eine Freisetzung von Kininogenasen zustande.^{8,9,10)} Der therapeutische Effekt des Trasylols besteht in einer Hemmung der Freisetzung von Kininen, was zu einer Normalisierung der Mikrozirkulation führt und damit zu einer Abmilderung von Schocksymptomen.

3. Proteaseninhibitoren in der Pankreatitistherapie

Die in der Pathogenese der Pankreatitis erfolgende vorzeitige Trypsinogenaktivierung^{11,12,13,14)} und die durch Entzündungs-

vorgänge in unspezifischer Weise aktivierten Kininogenasen des Serums führen zu einer autokatalytischen Gewebszerstörung mit Kreislaufkollaps.^{15,16,17,18)}

Die kollaptischen Erscheinungen werden durch die blutdrucksenkende Wirkung freigesetzter Kinine verursacht. Der Rinder-Trypsin-Kallikrein-Inhibitor, Trasylol, hemmt die beiden vorgenannten pathologischen Prozesse, insbesondere die Blutdruckkrisen, weniger die autokatalytische Zerstörung des Pankreas.

V. Spezielle Proteaseninhibitoren beim Menschen und ihre pathophysiologische Bedeutung

1. Inhibitoren des menschlichen Serums

Durch Stärkegelelektrophoresen und durch das Sandwichverfahren mit Fibrinagarplatten konnten im Humanserum folgende, zum Teil polyvalente, zum Teil streng spezifische Proteaseninhibitoren identifiziert und entsprechend ihrer Lage im Elektrophogramm bezeichnet werden (z.B. α_1 -Antitrypsin, Inter- α -Trypsininhibitor:¹⁾

- A) Im Postalbuminbereich: ein spezifischer Chymotrypsininhibitor (α_1 -Antichymotrypsin)
- B) In der α_1 -Globulinfraktion:
 - a) ein Inhibitor für Trypsin und Chymotrypsin (α_1 -Antitrypsin)
 - b) ein "slow-reacting" Plasmin-Hemmkörper
- C) Zwischen α_1 - und α_2 -Globulinfraktion:
 - ein spezifischer Trypsininhibitor (Inter- α -Trypsininhibitor)
- D) In der α_2 -Globulinfraktion:
 - ein Inhibitor für Trypsin, Chymotrypsin und (bevorzugt) Plasmin (α_2 -Makroglobulin)

Dabei wird die Proteasen-Hemmkapazität des Serums hauptsächlich durch die unter B) a) und D) genannten Inhibitoren repräsentiert. 90% der trypsinhemmenden Kapazität des menschlichen Serums geht vom α_1 -Antitrypsin aus, das die Hauptmenge in der α_1 -Globulinfraktion ausmacht.^{19,20,21)}

2. Pathophysiologische Bedeutung der Serum-inhibitoren

Viele Krankheitsbilder der inneren Medizin gehen mit Verschiebungen des Proteingehaltes der elektrophoretischen Eiweißfraktionen einher. Kemp und Mitarbeiter konnten bei verschiedenen pathologischen Zuständen, insbesondere bei malignen Erkrankungen, bei Myokardinfarkt und nach großen chirurgischen Eingriffen einen erheblichen Anstieg des α_1 -Inhibitors feststellen.²²⁾

Veränderungen im Trypsin-Plasmininhibitor-Gehalt der α_2 -Globulinfraktion (α_2 -Makroglobulin) treten während der Gravidität,²³⁾²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾ nach Operationen,²⁷⁾ bei peripheren Venenstauungen²⁸⁾ und anderen Erkrankungen^{29,30,31)} auf.

Eine besondere Bedeutung besitzt ein aus Blut und Harn isolierbarer niedermolekularer säurestabiler Inhibitor, dessen Blutspiegel bei Nierentransplantationen eine frühzeitige Aussage über Transplantatkrisen zuläßt.³²⁾

3. Inhibitoren der menschlichen Luftwege

Proteaseninhibitoren kommen im oberen Respirationstrakt in relativ hoher Konzentration vor.³³⁾ Es handelt sich dabei um aus dem Blutserum stammende Inhibitoren, wie α_2 -Makroglobulin, α_1 -Antitrypsin^{34,35)} etc. und um einen niedermolekularen säurestabilen polyvalenten Proteaseninhibitor.^{36,37,38)} Dieser Inhibitor hemmt Trypsin, Chymotrypsin, Pronase und auch leukozytäre Proteasen. Die Gesamtheit dieser Inhibitoren repräsentiert eine relativ hohe antiproteolytische Kapazität, wobei 70% der Hemmwirkung durch den säurestabilen Inhibitor gestellt wird.³⁹⁾ Durch verschiedene Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß der säurestabile Inhibitor und auch α_1 -Antitrypsin in Bronchialsekreten in maskierter Form, d.h. in Bindung an proteolytische Enzyme vorkommen können.⁴⁰⁾ Der die Haupthemmkapazität repräsentierende niedermolekulare Inhibitor findet sich im Sekret von Gesunden im Verhältnis von 7:3, freie Form zu gebundener Form, während bei Patienten mit chronischen Bronchitiden ein umgekehrtes Verhältnis vorliegt,³⁹⁾ und in schweren Fällen sogar der gesamte Inhibitor komplexiert sein kann (Verbrauchsinhibitopathie).

4. Pathophysiologische Bedeutung der Inhibitoren für die menschliche Lunge

Bei Entzündungsvorgängen im menschlichen Respirationstrakt kommt es zur Freisetzung von Proteasen, bei banalen Infektionen vor allem von Leukozytenproteasen, die durch die Inhibitoren gehemmt werden. Der prozentuale Anteil von maskiertem Inhibitor an der Gesamtmenge vorhandener Inhibitoren wird deshalb als Maß für die Stärke ablaufender Entzündungsvorgänge angesehen.³⁹⁾

Während der niedermolekulare Inhibitor als Produkt des Flimmer-epithels die Inaktivierung leukozytärer Proteasen im Bronchialbereich übernimmt, ist α_1 -Antitrypsin das in den Alveolen wirkende Hemmprinzip.³⁹⁾ Bei starkem Mangel an α_1 -Antitrypsin aufgrund eines Gendefektes, werden gehäuft emphyse-
natöse Lungenveränderungen wegen der fehlenden Proteinase-
schutzwirkung beobachtet.^{41,42,43)} Aber nicht nur Fehlen, sondern auch individuelle Erniedrigung des Serum- α_1 -Antitrypsinspiegels können wahrscheinlich pulmonale und bronchiale Infekte und degenerative Prozesse bedingen.

5. Inhibitoren des menschlichen Harns

Das Vorkommen von antiproteolytischer Aktivität im Urin ist seit langem bekannt.^{44,45)} Durch Untersuchungen verschiedener Autoren konnte zwar festgestellt werden, daß ein Harninhibitor bei verschiedenen pathologischen Zuständen vermehrt ausgeschieden wird, aber es konnte kein Zusammenhang mit Serum-inhibitoren gefunden werden.^{46,47,48)}

Erst Hochstraßer und Mitarbeiter⁴⁹⁾ gelang es, eine Beziehung zwischen Harninhibitoren und Serum-inhibitoren herzustellen. Durch Affinitätschromatographie konnten sie aus nativem Humanplasma zwei Proteaseninhibitoren mit Molekulargewichten von 44000 und 22000 isolieren.⁵⁰⁾ Diese zwei Hemmstoffe zeigen eine übereinstimmende Aminosäurezusammensetzung, eine übereinstimmende immunologische Kreuzreaktion untereinander und mit dem Inter- α -Trypsininhibitor des Serums. Obwohl zwischen dem Inter- α -Trypsininhibitor (Molekulargewicht 140000) und den niedermolekularen Inhibitoren eine immunologische Ver-

wandschaft besteht, kann jedoch angenommen werden, daß die niedermolekularen Proteaseninhibitoren selbständige normale Bestandteile des Blutplasmas darstellen.⁴⁹⁾

Die säurestabilen Inhibitoren werden offensichtlich aus dem Inter-alpha-Trypsininhibitor durch einen bisher unbekannten enzymatischen Vorgang freigesetzt. Der Inter-alpha-Trypsininhibitor ist demnach als Inhibitor bzw. als Proinhibitor anzusehen.^{51,52)}

Zusätzlich konnten mit den gleichen Methoden zwei säurestabile polyvalente Proteaseninhibitoren aus dem Harn isoliert werden, die in Aminosäurezusammensetzung, in Molekulargewicht und in immunologischen Eigenschaften den Plasmainhibitoren ähnlich sind.⁴⁹⁾ Wegen der mit fast an Sicherheit grenzenden Identität zwischen Plasma- und Harninhibitoren, nehmen Hochstraßer und Mitarbeiter eine glomeruläre Filtration dieser Inhibitoren an; obwohl das Molekulargewicht (das Monomere scheint der Inhibitor mit dem Molekulargewicht von 22000 zu sein) sehr hoch ist.⁴⁹⁾

An der antiproteolytischen Wirkung des menschlichen Harns ist wahrscheinlich auch noch ein zweiter definierter Inhibitor beteiligt. Das humorale alpha₁-Antitrypsin (Molekulargewicht 54000) ist sehr häufig im Harn feststellbar. Ähnlich wie bei anderen Proteinen des Primärharns wird dieser Inhibitor nicht vollständig rückresorbiert.

B. Theoretische VorüberlegungenI. Die Permeabilität des Nierenfilters

Der dreischichtige glomeruläre Filterapparat der Nieren, bestehend aus Kapillarendothel, Basalmembran und Deckzellschicht (Podozyten der Bowman'schen Kapsel), stellt ein Diffusionshindernis für den Substanzdurchtritt aus dem Serum in den Primärharn dar. Da die Fenster der Kapillarwandung (500-1000 Å) und die Lücken zwischen den Podozyten (200-500 Å) der Deckzellschicht beträchtlich größer sind als die Poren der Basalmembran, bildet sie die eigentliche Filtrationsbarriere. Die Weite der Porenäquivalente der Basalmembran ist dann im wesentlichen dafür bestimmend, bis zu welcher Molekülgröße Substanzen noch filtriert werden können.⁵³⁾ Die Größe der Passagewege innerhalb der Basalmembran weist Unterschiede zwischen 2 und 45 Å als äquivalenten Porenradius auf, mit einem Häufigkeitsmaximum bei 30 Å.⁵³⁾ Als Grenzmolekulargewicht für den Membrandurchtritt gilt 80 000-90 000, entsprechend dem maximalen Porenradius von 45 Å. Einen zweiten limitierenden Faktor für den Substanzdurchtritt im glomerulären Apparat stellt der Molekülradius der diffundierenden Stoffe dar. Dieser errechnet sich aus der Näherungsbeziehung $r=0,15 \sqrt{M(R)}$.⁵³⁾ Mit wachsendem Molekülradius der gelösten Stoffe nimmt die Filtrationsrate entsprechend ab. Während Kreatinin mit einem Molekulargewicht von 113 noch frei filtrierbar ist wie Wasser (100%ige Filtration), hat Serumalbumin mit einem Molekulargewicht von 69 000 nur noch eine Filtrationsrate von 1% verglichen mit Kreatinin.⁵³⁾ Die Filtrationsraten von α_1 -Antitrypsin (Mol.-Gew. 54 000) und der säurestabilen Proteaseninhibitoren (Mol.-Gew. 22 000 bzw. 44 000) liegen zwischen den beiden vorgenannten Extremwerten.

II. Proteinrückresorption im Tubulusapparat der Nieren

Trotz weitgehender Behinderung der Proteinfiltration durch die glomeruläre Basalmembran, beträgt die im Primärharn er-

scheinende Proteinmenge doch zwischen 4 bis 17 g/Tag. Davon werden jedoch 99% wieder rückresorbiert, so daß die Proteinausscheidung im menschlichen Endharn normalerweise nicht mehr als 100 mg/Tag beträgt.^{54,53)}

Der Mechanismus der Proteinrückresorption verläuft in Form einer Pinozytose, wobei die proximalen Tubuluszellen die Proteine aus der Tubulusflüssigkeit aufnehmen.⁵⁵⁾ Während die proteinhaltigen Vesikel basalwärts durch die Zelle wandern, werden aus Lysosomen proteolytische Fermente in sie eingeschleust. Ihr Volumen verringert sich dann zunehmend, da die Proteine durch die Enzymeinwirkung in permeationsfähige niedermolekulare Verbindungen gespalten werden, die in das Zytoplasma diffundieren.⁵³⁾

III. Störungen der Nierenfunktion und damit verbundene Veränderungen der Harninhibitoren

Verschiedenartige Schädigungen des glomerulären Filters (verminderte Anzahl funktionstüchtiger Glomerula; vermehrte Permeabilität) oder des tubulären Apparates (verminderte Rückresorptionsleistung), wie sie bei Nierenerkrankungen vorkommen, führen zu einer Veränderung der Ausscheidungsquantitäten normaler Harnbestandteile. Demnach müßten auch charakteristische Veränderungen der Inhibitorwerte (α_1 -Antitrypsin; säurestabile Inhibitoren) in Serum und Harn auftreten. Ausgehend von dieser Arbeitshypothese untersuchten wir deshalb ein Kollektiv von 110 Patienten mit verschiedenen Nephropathien auf Abweichungen der Inhibitorspiegel in Harn (α_1 -Antitrypsin; niedermolekularer Inhibitor) und Serum (niedermolekularer Inhibitor).

IV. Normalwerte der säurestabilen Inhibitoren und des α_1 -Antitrypsin in Serum und Urin bei Nierengesunden

1. säurestabile Proteaseninhibitoren

Die Werte im enteiweißten Serum liegen zwischen 5 und 10 mIU/ml, mit den größten beobachteten Häufigkeiten bei 6, 7 und 8 mIU/ml.

In diesen Häufigkeitsgruppen liegen die durchschnittlichen Harnkonzentrationen zwischen 8 und 10 mIU/ml, mit Grenzwerten von 3 und 25 mIU/ml. Die Tagesausscheidung des Inhibitors beträgt im Durchschnitt etwa 10 000 mIU mit Grenzwerten bei 4000 und 22 000 mIU. Norm bis 24 000 mIU.⁴⁹⁾

2. α_1 -Antitrypsin

Der Plasmanormalspiegel für α_1 -Antitrypsin besitzt eine Variationsbreite von 200 bis 400 mg% (1060 mIU/ml - 2120 mIU/ml), der Mittelwert liegt bei 290 mg% (1537 mIU/ml). Die Normalwerte im Harn sind unbekannt, jedoch aufgrund des hohen Molekulargewichtes von α_1 -Antitrypsin (Mol.-Gew. 54 000) so niedrig, daß sie bei Nierengesunden mit Sicherheit außerhalb des Meßbereichs der Partigenplatten liegen.

C. Ergebnisse der Untersuchungen

I. Bei der akuten Glomerulonephritis lagen fast alle gemessenen Parameter (Serumkreatinin [0,6 mg% - 0,9 mg%]; Seruminhibitor [9,1 - 10,4 mIU/ml]; Harninhibitor nach Enteiweißung [6,0 - 11,3 mIU/ml]; Inhibitor Tagesausscheidung [9500 - 21 000 mIU/d]) im Bereich der Norm, nur für den α_1 -Antitrypsin-Urinspiegel fanden sich starke Schwankwerte zwischen 0 und 19 $\frac{1}{3}$ mIU/ml. Der durchschnittliche Prozentanteil des α_1 -Antitrypsins an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität im Urin betrug 38,1%, der des niedermolekularen Inhibitors 61,9 %.

II. Die chronische Glomerulonephritis, die mit einer deutlichen Einschränkung der Nierenfunktion einhergeht, manifestierte sich im Unterschied zur akuten Form in einer deutlichen Erhöhung der Retentionswerte. Die Serumkreatininwerte waren auf 1,4 - 11,0 mg% erhöht, entsprechend dazu waren Seruminhibitorspiegelanstiege auf 14,7 - 55,8 mIU/ml zu verzeichnen. Der Harn wies hohe Konzentrationsschwankungen für den niedermolekularen Inhibitor und das α_1 -Antitrypsin auf, wie es sich in den folgenden Werten zeigt:

niedermolekularer Inhibitor	13 - 105 mIU/ml
α_1 -Antitrypsin	0 - 94,3 mIU/ml

Folglich kam es auch zu Streuungen in der Harntagesausscheidung dieser beiden Substanzen:

niedermolekularer Inhibitor	11 500 - 104 000 mIU/d
alpha ₁ -Antitrypsin	0 - 141 500 mIU/d

Der auf alpha₁-Antitrypsin entfallende durchschnittliche Prozentanteil an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität war 22,8%, der des niedermolekularen Inhibitors 77,2%.

III. Die akute Pyelonephritis wies einen normalen Serumspiegel für Kreatinin (0,8 mg%) und Inhibitor (9,9 mIU/ml) auf. Die Inhibitorkonzentration im enteiweißten Harn war jedoch mit 28 mIU/ml gegenüber dem oberen Grenzwert des Normalbereichs (25 mIU/ml) nur gering erhöht. Die Ursache für die pathologische Inhibitortagesausscheidung von 72 300 mIU/d ist in der hohen Harnmenge von 2600 ml zu suchen. Für den alpha₁-Antitrypsin-Urinspiegel ergab sich 1,8 mIU/ml, für die alpha₁-Antitrypsin-Tagesausscheidung 4800 mIU/d. Der durchschnittliche prozentuale Anteil des alpha₁-Antitrypsins an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität im Urin belief sich hier auf 6,2%, der des niedermolekularen Inhibitors auf 93,8 %.

IV. Bei der chronischen Pyelonephritis waren dagegen die Serum-inhibitorwerte im Vergleich zur akuten Form auf 12-46 mIU/ml angestiegen. Parallel dazu fand sich eine Zunahme des Kreatinins im Serum auf 1 - 10,2 mg%. Bis auf eine Ausnahme waren alle Inhibitorwerte im enteiweißten Urin erhöht, wobei eine relative Häufung im Bereich zwischen 40 - 80 mIU/ml auftrat. Die Inhibitortagesausscheidungen lagen alle über dem Normalbereich, mit einem oberen und unteren Grenzwert von 194 000 mIU/d bzw. 22 300 mIU/d. Die alpha₁-Antitrypsin-Konzentrationen im Urin variierten wiederum relativ stark (0,5 - 22,3 mIU/ml), wobei sich Tagesausscheidungen zwischen 583 - 82 360 mIU/d ergaben. Die höchsten Tagesausscheidungen stammten von Patienten, bei denen die chronische Pyelonephritis mit einem akuten Schub einherging (Patient Nr. 27; Patient Nr. 61). Bei der chronischen Pyelonephritis errechnete sich für das alpha₁-Antitrypsin eine durchschnittliche prozentuale Beteiligung von 15,7%, für den niedermolekularen Inhibitor 84,3%.

V. Die akute interstitielle Nephritis (Scharlachnephritis) zeigte einen erhöhten Serumspegel für Kreatinin (1,37 mg%) und Inhibitor (16 mIU/ml), während alle anderen Parameter die normale Schwankungsbreite bei Nierengesunden nicht überschritten. (Inhibitor im entweißten Urin [10,4 mIU/ml]; Inhibitortagesausscheidung [17 200 mIU/d]; α_1 -Antitrypsin im Urin [0 mIU/ml]; α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidung [0 mIU/d]). Der durchschnittliche Prozentanteil des α_1 -Antitrypsins an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität im Urin belief sich in diesem Fall auf 0%, der des niedermolekularen Inhibitors auf 100%.

VI. Die chronische interstitielle Nephritis (Phenacetinnephritis) imponierte im Gegensatz zur akuten Form durch einen deutlichen Anstieg sämtlicher Meßwerte über den Normalbereich hinaus. Die Inhibitorspiegel im Serum pendelten sich auf Werte zwischen 28 und 47 mIU/ml ein, die Serumkreatininspiegel lagen um das zwei- bis dreifache (1,8 - 3,1 mg%) über der Norm. Die Inhibitorkonzentrationen im entweißten Harn bewegten sich zwischen 22 und 118 mIU/ml; entsprechende Unterschiede ergaben sich auch in der Inhibitortagesausscheidung (37 400 - 142 000 mIU/d). Als Folge der unterschiedlichen α_1 -Antitrypsin-Urinkonzentrationen (2,6 - 47,2 mIU/ml) differierten die Tagesausscheidungen zwischen 3000 - 80 200 mIU/d. Bei der chronischen interstitiellen Nephritis entfielen im Durchschnitt 21,9% der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität im Harn auf α_1 -Antitrypsin, 78,1 % auf den niedermolekularen Inhibitor.

VII. Als Zeichen der massiven Funktionseinschränkung bei der chronischen Niereninsuffizienz ließ sich eine merkliche Erhöhung sämtlicher harnpflichtiger Substanzen im Serum feststellen. Die Inhibitorspiegel im Serum schwankten zwischen 16 und 144 mIU/ml, das Kreatinin mit Werten zwischen 1,3 und 12 mg% zeigte ein ähnliches Verhalten. Die Inhibitorkonzentrationen im Harn mit Extremwerten von 16 bzw. 211 mIU/ml besaßen ihre größte Häufigkeitsdichte im Bereich von 35 - 100 mIU/ml. In den Fällen mit über 100 mIU/ml im Harn traten enorm hohe Inhibitortagesausscheidungen auf, mit Höchstwerten bis zu 243 000 mIU/d. Bei manchen dieser Patienten bestand zusätzlich

zur chronischen Niereninsuffizienz noch eine Zweiterkrankung wie z.B. Amyloidose (Patient Nr. 46), chronische Pyelonephritis (Patient Nr. 109) und Diabetes mellitus (Patient Nr. 118). Die α_1 -Antitrypsin-Urinspiegel zeigten ebenfalls wie die Urininhibitorspiegel ein Verteilungsspektrum über einen breiten Bereich (0 - 270 mIU/ml). Eine dementsprechende Varianz in der α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidung (0 - 278 250 mIU/d) war die Folge. 15,5% der durchschnittlichen Gesamthemmkapazität im Urin wurden bei dieser Nierenerkrankung von α_1 -Antitrypsin gestellt, der Rest, in Höhe von 84,5 % von dem niedermolekularen Inhibitor.

In einer weiteren uneinheitlichen Gruppe werden Nephropathien zusammengefaßt, die durch unspezifische Nierenschädigungen gekennzeichnet sind. Je nach dem Schweregrad und der Art der Schädigung konnten entsprechend starke Veränderungen der Inhibitorkonzentrationen in Serum und Urin beobachtet werden.

VIII. Akutes Nierenversagen (Schockniere)

Kreatinin 1,6 - 11,1 mg%

niedermolekularer Inhibitor

- a) im Serum 20,9 - 57,7 mIU/ml
- b) im enteweißten Harn 11,7 - 120 mIU/ml
- Tagesausscheidung 25 740 - 324 800 mIU/d

α_1 -Antitrypsin

- a) im Harn 0 - 35,3 mIU/ml
- Tagesausscheidung 0 - 51 490 mIU/d

Durchschnittliche Prozentanteile an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität (100 %) im Urin

- a) niedermolekularer Inhibitor: 92,5%
- b) α_1 -Antitrypsin: 7,5%

IX. Nierentransplantation

Kreatinin 1,4 - 3,4 mg%

niedermolekularer Inhibitor

- a) im Serum 15 - 46,5 mIU/ml
- b) im enteweißten Harn 14 - 85,5 mIU/ml
- Tagesausscheidung 46 200 - 204 345 mIU/d

alpha₁-Antitrypsin

a) im Harn 0 - 132,5 mIU/ml
Tagesausscheidung 0 - 315 900 mIU/d

Durchschnittliche Prozentanteile an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität (100 %) im Urin

a) niedermolekularer Inhibitor: 70,1 %
b) alpha₁-Antitrypsin: 29,9 %

X. Nierenarterienstenose

Kreatinin 1,4 - 1,5 mg %

niedermolekularer Inhibitor

a) im Serum 14 - 15,6 mIU/ml
b) im enteweißten Harn 6,5 - 22,3 mIU/ml
Tagesausscheidung 20 150 - 33 000 mIU/d

alpha₁-Antitrypsin

a) im Harn 0 - 0,5 mIU/ml
Tagesausscheidung 0 - 795 mIU/d

Durchschnittliche Prozentanteile an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität (100 %) im Urin

a) niedermolekularer Inhibitor: 98,8 %
b) alpha₁-Antitrypsin: 1,2 %

XI. Nierentumor (Hypernephrom)

Kreatinin 1,3 mg %

niedermolekularer Inhibitor

a) im Serum 14,3 - 18,4 mIU/ml
b) im enteweißten Harn 51,7 - 90,4 mIU/ml
Tagesausscheidung 67 210 - 99 440 mIU/d

alpha₁-Antitrypsin

a) im Harn 0 - 0,5 mIU/ml
Tagesausscheidung 0 - 689 mIU/d

Durchschnittliche Prozentanteile an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität (100 %) im Urin

a) niedermolekularer Inhibitor: 95,5 %
b) alpha₁-Antitrypsin: 0,5 %

XII. Nierensteine

Kreatinin 0,8 - 2,4 mg %

niedermolekularer Inhibitor

- a) im Serum 8,5 - 27,3 mIU/ml
b) im enteweißten Harn 5 - 47,2 mIU/ml
Tagesausscheidung 2000 - 84 960 mIU/d

alpha₁-Antitrypsin

- a) im Harn 0 mIU/ml
Tagesausscheidung 0 mIU/d

Durchschnittliche Prozentanteile an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität (100 %) im Urin

- a) niedermolekularer Inhibitor: 100 %
b) alpha₁-Antitrypsin: 0 %

XIII. Vaskuläre Veränderungen der Niere

Kreatinin 1,2 - 2,9 mg %

niedermolekularer Inhibitor

- a) im Serum 12,6 - 22 mIU/ml
b) im enteweißten Harn 10,6 - 24,9 mIU/ml
Tagesausscheidung 12 450 - 25 000 mIU/d

alpha₁-Antitrypsin

- a) im Harn 0 - 4 mIU/ml
Tagesausscheidung 0 - 7140 mIU/d

Durchschnittliche Prozentanteile an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität (100 %) im Urin

- a) niedermolekularer Inhibitor: 94,5 %
b) alpha₁-Antitrypsin: 5,5 %

XIV. Nieren-TBC

Kreatinin 6,5 mg %

niedermolekularer Inhibitor

- a) im Serum 58 mIU/ml
b) im enteweißten Harn 85,8 mIU/ml
Tagesausscheidung 163 020 mIU/d

alpha₁-Antitrypsin

- | | |
|-------------------|----------|
| a) im Harn | 0 mIU/ml |
| Tagesausscheidung | 0 mIU/d |

Durchschnittliche Prozentanteile an der Durchschnitts-Gesamthemmkapazität (100 %) im Urin

- a) niedermolekularer Inhibitor: 100 %
- b) alpha₁-Antitrypsin: 0 %

D. Diskussion der bisherigen Ergebnisse

Bei den sogenannten diffusen Glomerulonephritiden handelt es sich um nichteitrige, entzündliche, doppelseitige, auf immunologischer Grundlage entstandene Nierenerkrankungen mit mehr oder weniger ausgeprägtem Befall aller Glomerula.. Erst sekundär können dann Interstitium und tubulärer Apparat mitbetroffen sein. Je nach Verlauf und Entwicklung wird ein akutes Stadium, bei dem die ~~akut~~-entzündlichen Veränderungen im Vordergrund stehen, von einem chronischen Stadium, in welchem die Residuen nach durchgemachter Entzündung und neu auftretende Schübe den Verlauf bestimmen, unterschieden.⁵⁶⁾

Die typische akute Glomerulonephritis ist eine nach bestimmten Infekten auftretende (postinfektiöse), nichteitrige, auf dem Blutwege zustande kommende (hämatogene), beide Nieren und alle Glomeruli betreffende (doppelseitige, diffuse) Krankheit, die hauptsächlich Kinder und jüngere Erwachsene befällt.⁵⁷⁾

In 80 % der Fälle geht dem Ausbruch der akuten Glomerulonephritis eine Infektion des oberen Respirationstrakts (Pharyngitis, Tonsillitis, Sinusitis, Otitis media) voraus. Das gemeinsame pathogenetische Agens sind β -hämolyisierende Streptokokken der Gruppe A, und zwar insbesondere Typ 12 und 4, die sich durch besondere nephritogene Eigenschaften auszeichnen. Diese Erreger verursachen die Glomerulonephritis nicht durch direktes Eindringen in das Nierengewebe, sondern über eine von ihnen hervorgerufene allergisch-hyperergische Reaktion. Als Antigen wirken Bestandteile der Bakterien, von denen sich ein Teil an den Basalmembranen der glomerulären Kapillarschlingen niederschlägt, während der andere Teil die Bildung

spezifischer Antikörper veranlaßt. Haben letztere im Blut eine ausreichend hohe Konzentration erreicht, so reagieren sie mit den glomerulär fixierten Antigenen im Sinne einer Antigen-Antikörper-Reaktion, die eine hochgradige Entzündung der glomerulären Kapillaren zur Folge hat. Zwischen dem Manifestwerden der akuten Glomerulonephritis und der Vorkrankheit liegt eine Latenzperiode von 4-14 Tagen, die sich aus der für die Bildung wirksamer Antikörpermengen erforderlichen Zeit, erklärt.⁵⁷⁾

Makroskopisch sind die Nieren in der Regel normal groß oder gering vergrößert und weisen gelegentlich Blutpunkte auf. Mikroskopisch füllen die Glomeruli den Bowman'schen Kapselraum vollständig aus. Die Kapillaren sind verengt und enthalten nur wenige Erythrozyten. Die Glomeruli selbst sind zellreich und vermehrt von polymorphkernigen Leukozyten durchsetzt. Gelegentlich finden sich Fibrinthromben in den Schlingen. Diese morphologischen Veränderungen im Sinne einer Entzündung (Kapillaritis!) stehen in enger Beziehung zu den funktionellen Befunden. Folge der erhöhten Kapillarpermeabilität sind Proteinurie, Zylindrurie und Erythrozyturie. Infolge der Obstruktion der Glomeruli mit Endothelschwellung ist die Filtration gestört, eine geringe Verminderung des Glomerulusfiltrats kann die Folge sein. Deshalb kommt es auch manchmal zu geringen Erhöhungen der harnpflichtigen Substanzen (Rest-N, Harnstoff, Kreatinin) im Blut. Ausgeprägte Urämien sind bei der akuten Glomerulonephritis aber sehr selten, ebenso wie eine starke Verminderung des Glomerulusfiltrats.⁵⁶⁾

Wir konnten in zwei untersuchten Fällen keine Erhöhung der Retentionswerte nachweisen. Kreatinin und niedermolekularer Inhibitor im Serum unterschieden sich nicht von der Norm. Auch die Urinbefunde fielen normal aus. Lediglich in einem Fall (Patient-Nr. 96) kam es in Übereinstimmung mit der bei der akuten Glomerulonephritis auftretenden Proteinurie zu einer nicht unbeträchtlichen Ausscheidung von α_1 -Antitrypsin. Trotz dieser Tatsache können aufgrund der vorliegenden allgemeinen Befundkonstellation keine pathophysiologischen Schlußfolgerungen gezogen werden.

Als chronische Glomerulonephritis bezeichnet man ein Krankheitsbild, das aus einem akuten oder aus einem subklinischen Stadium entstanden ist und mit chronisch entzündlichen bzw. vernerbenden Veränderungen an den Glomeruli einhergeht. In einem unterschiedlichen Verlaufstempo kommt es durch fortschreitende Verödung der Glomeruli zu einem zunehmenden unaufhaltsamen Ausfall von Nephren und schließlich zur Einmündung in die chronische Niereninsuffizienz. Die ätiologischen Faktoren, die den Übergang einer akuten in eine chronische Form bedingen, sind noch nicht mit hinreichender Sicherheit bekannt. Es wird vermutet, daß es sich um einen autoimmunisatorischen Vorgang handelt, wobei von der erkrankten Niere selber abgegebene Antigene (= Autoantigene) ursächlich verantwortlich sind.⁵⁷⁾

Klinisch werden heute 2 Typen der chronischen Glomerulonephritis unterschieden:

- a) die chronische Glomerulonephritis mit vaskulärem Verlauf (auch hypertonische, nephritische Verlaufsform), deren Fortschreiten in Schüben erfolgt. Im Vordergrund steht die Hypertonie im großen Kreislauf. Im Zusammenhang damit finden sich viele hyalinisierte Glomeruli mit beträchtlichen Veränderungen an den Gefäßen im Sinne einer Arterioarteriiosklerose. Morphologisch liegen meist Folgen der subakuten extrakapillären Glomerulonephritis mit Halbmondbildung vor.
- b) die chronische Glomerulonephritis mit nephrotischem Verlauf (auch proteinurisch-hydrophische Verlaufsform), deren Weiterschreiten schleichend erfolgt. Man spricht deshalb von primär chronischer Glomerulonephritis. Im Vordergrund steht das nephrotische Syndrom mit Ödemen, während Blutdrucksteigerungen dagegen fehlen. Bei dieser Verlaufsform findet man morphologisch bevorzugt die lobuläre oder membranöse Glomerulonephritis. Erstere ist mikroskopisch durch Obliteration der zentralen Kapillaren und Mesangiumzellwucherung, letztere durch diffuse Verdickungen aller glomerulären Basalmembranen, gekennzeichnet. Als Folge tritt schließlich ebenfalls eine Hyalinisierung der Glomeruli auf.⁵⁸⁾

Abhängig von den Störungen der glomerulären Durchblutung infolge Thrombosierungen bzw. Hyalinisierungen einzelner Kapillarschlingen oder schließlich ganzer Glomeruli bei der chronischen Glomerulonephritis tritt eine Verminderung der glomerulären Filtrationsfläche auf. Die daraus folgende Abnahme des Filtrats wird bei genügender Ausprägung zur Ursache der Azotämie.

Einhergehend mit der Verminderung des Glomerulusfiltrats beobachteten wir bei der chronischen Glomerulonephritis eine Erhöhung der Inhibitor- und Kreatininspiegel im Serum. Der Grad der Funktionseinschränkung der Nieren wurde dabei von der Inhibitorkonzentration in manchen Fällen wesentlich deutlicher angezeigt als vom Kreatinin (Patient-Nr. 8, 31, 67, 83, 93, 104) zum selben Zeitpunkt.

Die Urinbefunde (niedermolekularer Inhibitor) waren in den meisten Fällen erhöht, aber auffallenderweise fehlten extreme Harninhibitorkonzentrationen weitgehend. Entsprechend den beiden Verlaufsformen der chronischen Glomerulonephritis traten bei der nephrotischen Verlaufsform (Patient-Nr. 8, 42, 56, 104, 117) weit höhere α_1 -Antitrypsin-Urinkonzentrationen und α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidungen auf als bei der vaskulären (Patient-Nr. 2, 31, 60, 83, 88, 93, 98, 111). Die vorgenannten pathologischen Befunde dürften ihre Ursache in der Überlagerung glomerulärer und geringgradiger tubulärer Störungen haben, wobei sich die einzelnen Komponenten nicht eindeutig trennen lassen.

Unter Pyelonephritis versteht man eine infektiöse Erkrankung der Niere, welche durch eine primär-entzündliche Reaktion des Nierenbeckens und Parenchyms auf eine Bakterieninvasion charakterisiert ist. Als Erreger kommen in erster Linie Keime der Koli-Gruppe (60 - 80 %) in Frage. Hauptsächlichster Infektionsweg ist die Keimaszension in den ableitenden Harnwegen. Sie wird durch prädisponierende Faktoren, die zu einer Behinderung des Urinflusses führen, wie Stenosen, Strikturen, Steine, Mißbildungen oder Tumoren im Harnwegssystem bzw. neurogene Blasenentleerungsstörungen (obstruktive Pyelonephritis) begünstigt. Eine wesentliche Rolle spielt

auch eine Störung der Ureterperistaltik im Sinne eines vesikoureteralen Refluxes. Entzündungen des Nierenbeckens (Pyelitis) führen fast immer zu einer Beteiligung des Nierenparenchyms (Pyelonephritis). Die nichtobstruktive Pyelonephritis entsteht meist durch hämatogene Streuung einer Tonsillitis oder eines Furunkels.

Die akute Pyelonephritis, die mit Kopfschmerzen, Fieber, Schüttelfrost und Schmerzhaftigkeit der Nierenlager einhergeht, tritt in der Regel doppelseitig auf. Nierenbecken und Kelche lassen diffuse entzündliche Veränderungen erkennen. Das Nierenparenchym ist fleckförmig befallen, es finden sich Infiltrate von polymorphkernigen Leukozyten bis hin zum Mikroabszeß. Die Glomeruli dagegen bleiben ausgespart. Im Gegensatz zur chronischen Form leidet bei der akuten Pyelonephritis aufgrund der diskreten fleckförmigen Veränderungen die Nierenfunktion nicht wesentlich. Die relativ geringe Beteiligung der Glomeruli am Krankheitsgeschehen erklärt, warum die Proteinurie hier wesentlich geringer ist als bei der Glomerulonephritis. Lediglich die Konzentrationsfähigkeit kann in den ersten Tagen herabgesetzt sein. Dementsprechend ist eine Erhöhung der Retentionswerte zunächst selten zu verzeichnen.^{56,57)}

Bei unserem Patienten mit akuter Pyelonephritis fanden wir keine Erhöhung von Kreatinin und Inhibitor im Serum. Was die Tatsache der hohen Harninhibitortagesausscheidung betrifft, so könnte in diesem Falle die große Tagesharnproduktion angeschuldigt werden, die wahrscheinlich auf einer verminderten Konzentrationsfähigkeit der Nieren beruht. Parallel zu der bei der akuten Pyelonephritis auftretenden geringen Proteinurie ergab sich eine nicht besonders hohe Tagesausscheidung von α_1 -Antitrypsin. Allem Anschein nach sind alle diese Phänomene ein Zeichen für eine renale Parenchymschädigung mit Beteiligung des tubulären Apparates.

Die chronische Pyelonephritis tritt meist im Anschluß an eine nicht ausgeheilte, immer wieder rezidivierende akute Pyelonephritis auf. Der Beginn der Erkrankung kann, ähnlich dem der

primär-chronischen Glomerulonephritis, so schleichend vor-sichgehen, daß er sich nicht genau bestimmen läßt.

Makroskopisch kommt es bei der chronischen Pyelonephritis zu einer ausgedehnten Parenchymschrumpfung und zu unregelmäßigen narbigen Einziehungen an der Nierenoberfläche. Die Histologie weist folgende Veränderungen auf: 1) Kolloidzyylinder in den Tubuli; 2) Herdförmige Infiltrationen von polymorph-kernigen Leukozyten, Lymphozyten oder Plasmazellen in und um die Tubuli; 3) Periglomeruläre Fibrosen und Hyalinosen; 4) eine Entzündung des Nierenbeckens. Da die Bakterienvermehrung vor allem vom Nierenmark aus vorsichgeht, ist das tubuläre System zunächst stärker betroffen als das glomeruläre. Eine Störung der tubulären Transportprozesse macht sich daher relativ frühzeitig in einer Einschränkung des Konzentrationsvermögens bei erhaltener Verdünnungsfähigkeit bemerkbar. Daneben können allerdings seltener, spezifische tubuläre Syndrome, wie nephrogener Diabetes insipidus, Salz- und Kalium-verlustsyndrome und hyperchlorämische Azidose, auftreten. Da schließlich auch die Glomeruli alteriert und zerstört werden und die Nierendurchblutung wegen des häufig vorhandenen Hochdrucks erniedrigt ist, kommt es zu einer allmählichen Reduktion des gesamten funktionsfähigen Nierengewebes.^{56,57} Die wichtigsten Folgezustände sind die Verminderung des Glomerulusfiltrats mit Retention von normalerweise frei diffusiblen Stoffen und die Erhöhung der Permeabilität für größere Moleküle (Proteine, Hämoglobin).

Übereinstimmend mit diesen pathologischen Phänomenen konnte bei allen Patienten eine nicht unerhebliche Einschränkung der Filtration mit Hilfe des Kreatininspiegels im Blut nachgewiesen werden. In allen Fällen war auch der niedermolekulare säurestabile Inhibitor im Serum erhöht. In einem Fall (Patient-Nr. 41) lag der niedermolekulare Inhibitor schon deutlich über der Norm (12 mIU/ml) und zeigte einen pathologischen Wert an, während das Kreatinin gerade auf 1mg% angestiegen war. Trotz der Vielfältigkeit der Urinbefunde, können die relativ hohen Inhibitortagesausscheidungen mit einiger Sicherheit als Folge einer Störung der Harnkonzentration der Niere und der tubulären Transportprozesse gedeutet werden, obwohl keine exakten Messungen der tubulären Schädigung

möglich waren. Einen Beweis für die Einschränkung des Konzentrationsvermögens dagegen, erbringen die hohen Urintagesproduktionen, die eindeutig in Richtung Hypotonie weisen und weit über dem normalen Tagesausscheidungsvolumen beim Nierengesunden liegen. Die höchsten Ausscheidungen sowohl an niedermolekularem Inhibitor als auch α_1 -Antitrypsin fanden sich bei Patienten (Patient-Nr. 27,61), bei denen sich auf die bestehende chronische Pyelonephritis ein akuter Schub aufgepfropft hatte. Nicht ganz so fern liegt deshalb der Gedanke, akute Exazerbationen einer chronischen Pyelonephritis anhand von stark erhöhten Tagesausscheidungen des säurestabilen Inhibitors und des α_1 -Antitrypsins nachweisen zu können. Wenn es gelingt, akute Phasen rechtzeitig zu erkennen und mit einer angemessenen Behandlung zu kupieren, könnten die Nierenfunktionen sich wieder schnell erholen, wenn auch nicht normalisieren.

Bei der akuten interstitiellen Nephritis handelt es sich um eine heute seltene Erkrankung. Sie kann als Begleiterkrankung bei Scharlach, Diphtherie und Typhus abdominalis, jedoch auch im Verlaufe von Virusinfektionen sowie nach allergischen Reaktionen bestimmten Medikamenten gegenüber auftreten. Die bakteriell ausgelöste akute interstitielle Nephritis beruht wahrscheinlich auf einer direkten Wirkung der Erreger auf die Nierenorgane. Histologisch findet sich eine teils herdförmige, teils diffuse zelluläre Infiltration (Plasmazellen, Lymphozyten) mit interstitiellem Begleitödem. Die klinischen Erscheinungen beschränken sich im allgemeinen auf eine nur leichte Proteinurie und Hämaturie ohne Hochdruck und periphere Ödeme. Auch eine geringgradige Verminderung der GFR kann auftreten,^{57,59)} die sich bei unserem Patienten in Form einer Zunahme des Kreatinin- und des Inhibitorspiegels im Serum manifestierte. Der Urininhibitorspiegel und die Inhibitor-tagesausscheidung zeigten dagegen keinen Anstieg, sondern lagen im Bereich der Norm. Ein Eiweißverlust durch die Niere in Form von α_1 -Antitrypsin trat nicht auf, was für ein noch gutes Erhaltensein der Glomeruli bei der akuten interstitiellen Nephritis sprechen würde.

Als chronisch-interstitielle Nephritis wird eine chronische, interstitielle, nichteitrige, destruierende Entzündung der Niere bezeichnet. Sie hat sehr enge Beziehungen zu jenen chronischen Pyelonephritiden, die eine akute Phase und obstruktive Veränderungen vermissen lassen. Pathogenetisch wird ein langzeitiger Phenacetinabusus mit zusätzlicher bakterieller Infektion des interstitiellen Nierengewebes diskutiert. Makroskopisch fehlen die für die Pyelonephritis typischen, scharf eingezogenen und begrenzten Narben an der Oberfläche der Niere. Histologisch findet man entzündliche Infiltrate aus Lymphozyten, Plasmazellen, vereinzelt auch Eosinophilen und Histiozyten im Bereich der Markrindengrenze. Die Glomeruli sind zunächst in den Frühstadien gut erhalten. Im Spätstadium treten periglomeruläre Fibrosen, obliterierende Gefäßveränderungen und diffuse Marksklerosierungen auf, denen Markkegelnekrosen folgen. Diese manifestieren sich in Hämaturie und Kolikschmerzen. Die Folgen der Markfibrose und tubulären Atrophie bei chronisch interstitieller Nephritis, welche frühzeitig zu einer Störung tubulärer Transportvorgänge (Hyposthenurie, Natriumverluste, metabolische Azidose) und zu einer Reduktion der glomerulären Filtration führen, entsprechen den charakteristischen Funktionsstörungen bei chronischer Pyelonephritis.⁵⁶⁾

Als Zeichen der glomerulären Funktionseinschränkung fanden wir bei der chronisch-interstitiellen Nephritis stark erhöhte Kreatinin- und Seruminhäbitorwerte.

Die pathologischen Inhäbortagesausscheidungen, in Verbindung mit den hohen Tagesharnvolumina, lassen sich wie bei der chronischen Pyelonephritis wahrscheinlich als eine Folge der Hyposthenurie und der tubulären Transportstörungen deuten. Die manchmal doch beträchtlichen α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidungen scheinen ebenfalls aus den beiden vorgenannten Nierenfunktionsstörungen zu resultieren. Inwieweit der eine oder andere Faktor für die α_1 -Antitrypsin-Ausscheidung verantwortlich gemacht werden kann, geht über den Rahmen der hier vorliegenden Untersuchungen hinaus.

Sowohl die primär-glomerulären (chronische Glomerulonephritis) wie auch die primär-interstitiellen und tubulären Nierenerkrankungen (Pyelonephritis, interstitielle Nephritis) führen

früher oder später zur chronischen Niereninsuffizienz. Ihre funktionelle Grundlage besteht in der progressiven Verminderung des Glomerulusfiltrats in der Schrumpfniere, die in der Form des globalen Nierenversagens zwangsläufig zu Veränderungen sämtlicher Nierenfunktionen und damit zu Auswirkungen auf die Zusammensetzung des Harns und der Körpersäfte Anlaß gibt.⁶⁰⁾

Im Stadium I der chronischen Niereninsuffizienz erfolgt lediglich eine Einschränkung der Leistungsbreite mit Verminderung des Glomerulusfiltrats (normal=120 ml/min) bis etwa 50 ml/min. Die klinischen Erscheinungen äußern sich hierbei in einer Einschränkung der Konzentrationsfähigkeit, die Störungen im Wasserhaushalt wie Nykturie und Polyurie, zur Folge hat. Im Stadium II, der kompensierten Retention, sinkt das Glomerulusfiltrat bis etwa 20 ml/min ab. Es kommt zu einer Retention von stickstoffhaltigen Schlackenstoffen im Blut. Im Stadium der fortgeschrittenen kompensierten Retention (Stadium III) ist die glomeruläre Filtrationsrate unter 20 ml/min vermindert. Zusätzlich besteht klinisch eine Anämie, eine Hyperphosphatämie, eine Hypokalzämie und eine Azidose. Im Stadium IV, der Urämie, liegt ein klinisches Syndrom vor, welches sämtliche Symptome und Zeichen umfaßt, die durch eine fortgeschrittene globale Niereninsuffizienz verursacht werden. Die Azotämie, d.h., die Retention von stickstoffhaltigen Stoffen im Blut, ist nur eine Teilerscheinung der Urämie. Insbesondere ist dieses Terminalstadium durch zentralnervöse Erscheinungen, gastrointestinale Störungen und eine urämische Perikarditis charakterisiert.

Das pathophysiologische Verhalten der Nieren bei chronischer Niereninsuffizienz ist durch die Reduktion der Zahl funktionsfähiger Nephrone mit osmotischer Diurese in den Restnephronen bedingt. Eine renale Ausscheidungsstörung von H^+ -Ionen verhindert die Elimination endogen gebildeter Säureäquivalente (80 mval/d) und führt somit zur metabolischen Azidose. Die eingeschränkte Regulationsbreite der Natriumausscheidung durch die Niere führt einerseits leicht zur Natriumretention mit Ödemen, andererseits bei salzarmer Ernährung, leicht zum renalen Salzverlust mit Dehydratation und volumenbedingten Abfall des Glomerulusfiltrats mit Harnstoffanstieg.⁵⁷⁾ Der

überaus starke Anstieg der Retentionswerte ist deshalb leicht verständlich.

Parallel zum Kreatinin war die Inhibitorkonzentration im Serum stark erhöht, was seine Ursache in dem großen Ausmaß der glomerulären Funktionseinschränkung hat. Ebenso massiv erhöht waren die Inhibitorspiegel und -tagesausscheidungen im Harn. Der Grund hierfür dürfte in der globalen Beeinträchtigung sämtlicher Patrifunktionen der Niere liegen. Die Vielfältigkeit der α_1 -Antitrypsin-Urinbefunde läßt keine sichere Deutung zu. Festzustehen scheint nur, daß keine feste Korrelation zwischen dem Schweregrad der Nierenfunktionsstörung, sichtbar an der Höhe der Retentionswerte, und der α_1 -Antitrypsin-Urinkonzentration bzw. α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidung besteht.

Unter akutem Nierenversagen wird eine ohne vorbestehenden Nierenschaden im Gefolge eines Schocks, einer Intoxikation oder einer allergischen Reaktion akut auftretende Oligurie (weniger als 400 ml) oder Anurie (weniger als 100 ml in 24 Stunden) verstanden. Sie ist nach wechselnd langer Zeit (Tage bis Wochen) spontan reversibel und führt über eine polyurische Reparationsphase meist zur vollständigen Wiederherstellung der ursprünglichen Nierenfunktion. Während des Funktionsausfalls der Niere kommt es zu vorübergehenden urämischen Erscheinungen.⁵⁷⁾

In 80 % der Fälle wird das akute Nierenversagen durch einen Schock ausgelöst. Durch die beim Schock auftretende Kreislaufzentralisation entsteht eine temporäre Minderdurchblutung der Nierenorgane, die in einer ischämischen Schädigung der Harnkanälchenepithelien resultiert. Als pathologisch-anatomisches Substrat dieser ischämischen Zellschädigung findet man eine deutliche Schwellung der Tubulusepithelien, verbunden mit unregelmäßigen Einzelzellnekrosen und Tubulusepithelregeneraten. Ein interstitielles Ödem und eine Infiltration können ebenfalls vorhanden sein. Makroskopisch erscheinen die Nieren vergrößert, der Kortex blaß und ödematös, das Mark häufig dunkel und livide. Der pathophysiologische Mechanismus des akuten Nierenversagens ist heute noch weitgehend unbekannt.

Gesichert ist nur eine Verminderung der glomerulären Filtration, die durch die frühdistale Natriumkonzentration (Thurau-Mechanismus) gesteuert wird, und eine vermehrte Rückdiffusion des Primärfiltrats.

Die Unfähigkeit der Niere, beim akuten Nierenversagen adäquate Harnmengen auszuschcheiden, hat folgende Konsequenzen. Durch die verminderte Elimination von Natrium und Wasser kommt es zur Ödembildung, d.h. zum Auftreten peripherer Ödeme oder eines Lungenödems. Die verminderte Kaliumausscheidung führt zur Hyperkaliämie mit der Gefahr des Herzstillstandes. Das Unvermögen der Niere, harnpflichtige Substanzen zu eliminieren, resultiert serumchemisch in einem Anstieg des Serumharnstoffes, der Harnsäure, des Kreatinins und des niedermolekularen Seruminhibitors. Die pathologisch erhöhten Inhibitor-tagesausscheidungen und -urinspiegel lassen jegliche Proportionalität zu den Kreatininwerten vermissen. Eine völlige Beziehungslosigkeit besteht auch zwischen den α_1 -Antitrypsin-Befunden und der Höhe der Kreatininspiegel im Serum. Rückschlüsse auf pathophysiologische Grundmechanismen des akuten Nierenversagens können deshalb nicht gezogen werden.

Entwickelt sich im Verlaufe verschiedenster Nierenerkrankungen eine chronische Niereninsuffizienz, so bleibt, abgesehen von der Dauerdialyse, die Nierentransplantation die Therapie der Wahl. Am besten eignen sich für Transplantationen Nieren genetisch verwandter Spender. Bei genetischer Identität, z.B. unter eineiigen Zwillingen, sind die Transplantationserfolge wegen der vollkommenen Übereinstimmung der Histokompatibilitäts- und Transplantationsantigene am günstigsten. Bei genetischer Differenz zwischen Transplantatspender und -empfänger muß mit immunologischen Auseinandersetzungen zwischen Empfänger und Transplantat gerechnet werden.⁵⁹⁾ Diese immunologischen Reaktionen führen trotz optimaler immunsuppressiver Therapie (Corticoide, Antilymphozytenserum) in den schlimmsten Fällen zur Transplantatverwerfung, in leichteren Fällen zu einer vorübergehenden Reduktion der Nierenfunktion. Letztere zeigte sich in einem Anstieg der Kreatinin- und Seruminhibitorspiegel sowie in den pathologischen Urinbefunden. Die Inhibitor-tagesausscheidungen lagen alle weit über der Norm, und zwar

auch in den zwei Fällen (Patient-Nr. 22,23), in denen die Inhibitorkonzentrationen keine Abweichungen vom Normalbereich aufwiesen. Die hohen α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidungen, die sich nur in einem Fall (Patient-Nr. 22) als negativ erwiesen, indizieren einen hohen Eiweißverlust durch die Transplantatnieren. Aufgrund der im Einzelfall vorliegenden einmaligen pathologischen Befunde kann noch kein Urteil darüber gebildet werden, ob die Reduktion der Nierenfunktion nur vorübergehend ist oder ob eine Transplantatabstoßung erfolgt. Erst durch eine mehrwöchige Verlaufskontrolle des Inhibitorspiegels im Serum und Urin und des α_1 -Antitrypsins im Harn könnte eine Voraussage über den Erfolg oder Mißerfolg einer Transplantation gemacht werden.

Durch diese Untersuchungen konnten folgende von Hochstraßer und Mitarbeiter gefundene Ergebnisse ⁴⁹⁾ nochmals bestätigt werden:

- 1) Die Bestimmung des Seruminhitorspiegels zeigt zuverlässig jede glomeruläre Funktionseinschränkung an.
- 2) Es besteht eine lineare Beziehung zwischen der Inhibitor-konzentration im Serum und der Kreatininkonzentration. (siehe Abb. 2)
- 3) Die Aussagekraft der Seruminhitorspiegel ist größer als die der Kreatininspiegel im Blut. Dies kann auch hier an Fällen belegt werden, bei denen die Kreatininkonzentration im Serum an der oberen Grenze der Norm liegt. Bei diesen Patienten ist die Inhibitorkonzentration durchwegs noch um etwas das 2-3fache der Norm erhöht.

Verwendet man die Bestimmung des Seruminhitorspiegels als alleiniges Kriterium für die Nierenfunktion, so wäre auch bei diesen Untersuchungen kein Fall falsch negativ beurteilt worden. Bei Heranziehung der Harninhibitorkonzentration zur Nierendagnostik wären 19 % der Fälle falsch negativ beurteilt worden (21 von 110 Fällen). Die Bestimmung der Inhibitor-tagesausscheidung ergab 10 % falsch negative Befunde.

Als weitere Ergebnisse der Untersuchungen ergaben sich:

- 1) Eine α_1 -Antitrypsin-Ausscheidung findet nicht bei allen Patienten mit manifesten Nephropathien statt. Diese konnte nur in 73 % der Fälle nachgewiesen werden.

- 2) Eine Korrelation zwischen α_1 -Antitrypsinkonzentration im Urin und dem Serumkreatininspiegel besteht nicht. Die α_1 -Antitrypsin-Urinkonzentration eignet sich deshalb nicht als Indikator für die Erkennung des Schweregrades einer Nierenfunktionsstörung.
- 3) Sowohl die Konzentration des α_1 -Antitrypsins als auch die des niedermolekularen Inhibitors im Urin sind bei allen Nephropathien starken Schwankungen unterworfen.
- 4) Der größte Anteil der Gesamthemmkapazität im Urin entfällt in den meisten Fällen (87%) auf den niedermolekularen Inhibitor, während in 13% der Fälle das Gleichgewicht zugunsten der α_1 -Antitrypsins verschoben ist. In allen Fällen, in denen das α_1 -Antitrypsin den größeren Teil der Gesamthemmkapazität repräsentiert, liegen offensichtlich größere Anteile des niedermolekularen Inhibitors in maskierter Form vor (zur Berechnung siehe Gleichungen S. 53)

Inwieweit die Urinspiegel des niedermolekularen Inhibitors und des α_1 -Antitrypsins zur Diagnose von Nephropathien herangezogen werden können, läßt sich noch nicht mit Sicherheit beurteilen. Eventuell könnten sie zur Erkennung akuter tubulärer Läsionen verwendet werden, obwohl die Verhältnisse nicht einfach erscheinen. Letztliche Aussagen darüber können aber erst gemacht werden, wenn auch der in maskierter Form vorliegende Teil des α_1 -Antitrypsins bestimmbar ist. Zwischen maskiertem und freiem α_1 -Antitrypsin kann immunologisch bisher jedoch nicht differenziert werden.

E. Tabellarische Aufstellung der Meßwerte

Anmerkungen:

- I - Patientennummer
- II - Urinausscheidung in ml/d
- III - Kreatinin in mg%
- IV - niedermolekularer Inhibitor im enteweißten Serum
in mIU/ml
- V - Gesamthemmkapazität im Nativharn in mIU/ml (α_1 -
Antitrypsin + freier niedermolekularer Inhibitor)
- VI - Gesamthemmkapazität im enteweißten Harn in mIU/ml
(freier niedermolekularer Inhibitor + maskierter
niedermolekularer Inhibitor)
- VII - α_1 -Antitrypsin im Nativharn in $\frac{\mu}{\text{ml}}$
- VIII - α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidung in $\frac{\mu}{\text{d}}$
- IX - α_1 -Antitrypsin im Nativharn in mIU/ml
- X - α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidung in mIU/d
- XI - Gesamthemmstoffkonzentration pro ml (α_1 -Anti-
trypsin + freier niedermolekularer Inhibitor +
maskierter niedermolekularer Inhibitor)
- XII - Prozentanteil des auf α_1 -Antitrypsin entfallenden
Hemmstoffgehaltes der Gesamthemmstoffkonzentration
- XIII - Prozentanteil des auf niedermolekularen (freier +
maskierter) Inhibitor entfallenden Hemmstoffgehaltes
von der Gesamthemmstoffkonzentration
- XIV - Tagesausscheidung des niedermolekularen (freier)
Inhibitors im Nativharn in mIU/d
- XV - Tagesausscheidung des niedermolekularen (freier +
maskierter) Inhibitors im enteweißten Harn in mIU/d

AKUTE GLOMERULONEPHRITIS

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
84	850	0,85	10,5	9,5	11,3	0	0	0	0	11,3	0	100	8075	9562
96	3500	0,6	10,4	5	6	36,4	127400	19,3	67515	25,3	76,3	23,7	17500	21000
<u>CHRONISCHE GLOMERULONEPHRITIS</u>														
2	1400	2,3	46	90	55,6	51	71400	27	37842	82,4	32,7	67,3	126000	77840
8	2400	1,4	41,7	45	14,8	52	124800	27,5	66000	42,4	65,1	34,9	10800	35520
31	1600	1,3	15,3	51	48,7	20	32000	10,6	16960	59,3	17,9	82,1	81600	77920
42	1800	3,2	20,9	66	55,6	33	59400	17,5	31482	73,1	23,9	76,1	118800	100080
60	2200	11,5	55,8	37	40	0	0	0	0	40	0	100	81400	88000
67	1300	0,9	26,1	16	24,5	39	50700	20,7	26871	45,2	45,8	54,2	20800	31850
83	2200	1,3	14,7	2,3	13	0	0	0	0	13	0	100	5060	28600
88	1600	5,8	39,6	42	39,5	4	6400	2,1	3392	41,6	5,1	94,9	67200	63200
93	200	1,4	26,6	56	57,2	3,5	700	1,9	370	59,1	3,2	96,8	11200	11440
98	700	2,9	31	90	105	0	0	0	0	105	0	100	63000	73500
104	1250	1,5	17	11,5	16,2	1	1250	0,5	663	16,7	3,2	96,8	14375	20250
111	1600	2,0	34,8	12	8,7	12	19200	6,4	10176	15,1	42,2	57,8	19200	13920
117	1500	4,1	37,1	109	69,6	178	267000	94,3	141510	163,9	57,6	42,4	163500	104400
<u>AKUTE PYELONEPHRITIS</u>														
53	2600	0,8	9,9	30	27,8	3,5	9100	1,9	4810	29,7	6,2	93,8	78000	72280
<u>CHRONISCHE PYELONEPHRITIS</u>														
27	3700	1,6	18,9	23	27,8	42	155400	22,3	82362	50,1	44,5	55,5	85100	102860
41	3900	1,0	12	3,6	11,6	8	31200	4,2	16536	15,8	26,8	73,2	14040	45240

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
47	400	4,5	37,3	51	55,6	4	1600	2,1	848	57,7	3,7	96,3	20400	22240
61	3000	8,5	46	56	48,7	8,5	25500	4,5	13500	53,2	8,5	91,5	168000	146100
100	2400	2,7	30,7	78	81,2	3	7200	1,6	3816	82,8	1,9	98,1	187200	194880
108	1100	1,7	22	20	44,6	1	1100	0,5	583	45,1	1,2	98,8	22000	49060
114	1400	10,2	40,6	51	40,6	28	39200	14,8	20776	55,4	26,8	73,2	71400	56840
1	1600	1,8	19,5	50	45	12	19200	6,4	10176	51,4	12,4	87,6	80000	72000
<u>AKUTE INTERSTITIELLE NEPHRITIS</u>														
106	1650	1,4	16	10,5	10,4	0	0	0	0	10,4	0	100	17325	17160
<u>CHRONISCHE INTERSTITIELLE NEPHRITIS</u>														
3	3500	2,3	46,9	46,7	39,8	10	35000	5,3	18550	45,1	11,8	88,2	163450	139300
25	1700	2,4	29	30	22	89	151300	47,2	80489	69,2	68,1	31,9	51000	37400
54	1200	3,1	31,3	120	118,3	5,5	6600	2,9	3504	121,2	2,4	97,6	144000	141960
103	1150	1,8	28	43	43,5	5	5750	2,6	3048	46,2	5,7	94,3	49450	50025
<u>CHRONISCHE NIERENINSUFFIZIENZ</u>														
4	1800	1,8	24,3	18,5	15,6	12	19200	6,4	10176	51,4	12,4	87,6	80000	72000
5	1000	8,6	59,1	102	96,5	2	2000	1,1	1060	97,6	1,1	98,9	102000	96500
6	1550	6,0	31,3	78	52,2	155	240250	82,2	127333	134,5	61,2	38,8	120900	80910
7	1600	6,8	48,7	63	55,6	0	0	0	0	55,6	0	100	109800	88960
10	2600	6,3	51,3	60	54,8	0	0	0	0	54,8	0	100	156000	142480
11	1500	2,9	17,4	60	55,6	0	0	0	0	55,6	0	100	90000	83400
12	1200	8,7	20,6	90	62,5	175	210000	92,8	111300	155,4	59,7	40,3	108000	75120
13	3050	1,2	15,6	54	52,1	0	0	0	0	52,1	0	100	164700	158905
21	1600	7,5	41,3	38,7	35,2	0	0	0	0	35,2	0	100	61920	56320

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
28	1000	9,3	52,2	60	48,7	17	17000	9	9010	57,7	15,6	84,4	60000	48700
32	500	4,6	45,2	300	60	510	255000	270,3	135150	330,3	81,8	18,2	150000	30000
33	2100	5,5	52,1	120	55,6	250	525000	132,5	278250	188,1	70,4	29,6	252000	116760
34	1550	7,0	78,7	52,2	37,1	24	37200	12,7	19716	49,8	25,5	74,5	80910	57505
35	1550	9,6	95,1	77,7	69,6	36	55800	19,1	29574	88,7	21,5	78,5	120435	107880
36	2000	7,9	87,2	63,6	54,5	34	68000	18,0	16040	72,5	24,9	75,1	127200	109000
37	1600	7,8	71,9	35,9	34,2	6	9600	3,2	5088	37,4	8,5	91,5	57280	54720
38	1450	8,1	78,8	39,4	33,6	4,6	6670	2,4	3538	36,1	6,8	93,2	57130	48720
43	1450	3,6	27,8	54	52,2	1	1450	0,5	768	52,7	1,0	99	78300	75960
46	1150	4,9	104,4	380	211	264	303600	139,9	160908	350,9	39,9	60,1	437000	242650
50	2900	11,0	54,5	39	33,4	10	29000	5,3	15370	38,7	13,7	86,3	113100	96860
51	1800	2,1	27,8	120	124	4,7	8640	2,5	4482	126,5	1,9	98,1	216000	223000
56	230	7,1	49,8	201	197,2	8	1840	4,2	975	201,4	2,1	97,9	46230	45356
57	1230	9,0	57	72	70,1	4	4920	2,1	2608	72,2	2,9	97,1	88560	86223
58	1900	8,0	54	89	92,6	3	5700	1,6	3021	94,2	1,7	98,3	169100	175940
65	3400	7,7	36,5	41,7	44,4	0	0	0	0	44,4	0	100	141780	150960
68	3100	7,1	44,1	54	46,6	10	31000	5,3	16430	51,9	10,2	89,8	167400	144460
70	970	5,9	52,2	47	45,3	0	0	0	0	45,3	0	100	45590	43941
71	835	5,9	47,5	32	40,6	5,5	4593	2,9	2438	43,5	6,7	93,3	26720	33901
77	2900	9,9	42,9	26,5	24,4	2,5	7250	1,3	3828	25,7	5,1	94,9	76850	70760
78	1500	5,7	64,9	48	71,9	0	0	0	0	71,9	0	100	72000	107850
79	2000	5,0	58,8	69	88	2	4000	1,1	2120	89,1	1,2	98,8	138000	176000
80	1950	4,6	34,4	65	90,4	3,5	6825	1,9	3608	92,3	2	98	126750	176280
82	3700	3,5	25,5	21	22,6	5	18500	2,7	9805	25,3	10,5	89,5	77700	83620
86	1600	12,0	48,7	45	56,8	0	0	0	0	56,8	0	100	72000	90880
91	2700	7,9	82,3	37	42,9	8	21600	4,2	11448	47,1	8,9	91,1	99900	115830

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
92	2500	8,8	67,3	33	37,1	4	10000	2,1	5300	39,2	5,4	94,6	82500	92750
99	3100	7,4	39,5	44	40,6	4	12400	2,1	6572	42,7	4,9	95,1	136400	125860
105	1100	7,6	60,3	108	108,8	1	1100	0,5	583	109,3	0,5	99,5	118800	119680
109	750	4,9	47,5	100	136,9	1	750	0,5	398	137,4	0,4	99,6	75000	102000
110	1400	3,5	39,4	45	44,1	1	1400	0,5	742	44,6	1,2	98,8	63000	61740
112	200	7,4	51,5	90	80,4	20	4000	10,6	2120	91	11,7	88,3	18000	16080
113	1600	4,9	74,2	50	46,4	12	19200	6,4	10176	52,8	12,1	87,9	80000	74240
116	1900	10,8	62,6	55	27,8	119	226100	63,1	119333	90,9	69,4	30,6	104500	52820
118	800	7,6	143,8	250	109	236	188800	125,1	100064	234,1	53,4	46,6	200000	87200
119	600	7,0	82	116	102	253	151800	134,9	80454	236,1	56,8	43,2	69600	61200
120	1300	6,5	44	72	64,1	29	37700	15,4	19981	79,5	19,3	80,6	93600	83330
124	4050	10,1	62	18	16	0	0	0	0	16	0	100	72900	64800

AKUTES NIERENVERSAGEN

39	1450	3,7	38,9	140	120	67	97150	35,5	51490	155,5	22,8	77,2	203000	174000
48	2300	11,1	57,7	54	55,6	0	0	0	0	55,6	0	100	124000	127880
62	3900	4,9	38,2	44	48,7	0	0	0	0	48,7	0	100	171600	189930
63	3500	3,5	24,3	95,2	87,2	10	35000	5,3	18550	92,5	5,7	94,3	333200	305200
64	2450	2,9	22	153,1	132,2	30	73500	15,9	38955	148,1	10,7	89,3	370685	323890
87	2700	3,8	20,9	38	37,8	4	10800	2,1	5724	39,9	5,3	94,7	102600	102060
90	2200	1,6	23,8	13	11,7	2,5	5500	1,3	2904	13	10,1	89,9	28600	25740
115	4000	4,4	30	84	81,2	8	32000	4,5	18000	85,7	5,3	94,7	336000	324800

NIERENTRANSPLANTATION

9	2500	1,4	46,5	39	34,5	10	25000	5,3	13250	39,8	13,3	86,7	97500	86250
15	2100	-	-	120	78	120	252000	63,6	133560	141,6	44,9	55,1	252000	163800

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
16	1750	2,3	25	96	66	250	437500	132,5	231875	198,5	66,8	33,2	168000	115500
18	3275	3,1	33,1	96	52,5	182	596050	96,5	315907	148,7	64,9	35,1	314400	171937
19	3835	3,0	29,5	72	48,7	92	352820	48,8	186945	97,5	50,1	49,9	276120	186764
20	1500	2,4	26,1	84	55,6	52	78000	27,6	41340	83,2	33,1	66,9	126000	83400
22	2800	2,0	18,2	22,5	20,8	0	0	0	0	20,8	0	100	63000	58240
23	3300	1,7	15	10	14	1	3300	0,5	1749	14,5	3,7	96,3	33000	46200
72	2390	2,6	23,2	106	85,5	40	95600	21,2	50668	106,7	19,9	80,1	253340	204345
73	1350	2,7	25	94	74,2	50	67500	26,5	35775	100,7	26,2	73,8	126900	100170
74	1310	2,3	22,5	68	67,3	10	13100	5,3	6943	72,6	7,3	92,7	89080	88163
<u>NIERENARTERIENSTENOSE</u>														
14	1500	1,4	15,6	24,3	22,3	1	1500	0,5	795	22,8	2,3	97,7	36450	33000
30	3100	1,4	14	6	6,5	0	0	0	0	6,5	0	100	18600	20150
<u>NIERENTUMOR (HYPERNEPHROM)</u>														
26	1300	1,3	14,3	54	51,7	1	1300	0,5	689	52,2	1,1	98,9	70200	67210
55	1100	1,3	18,4	81,8	90,4	0	0	0	0	90,4	0	100	89980	99440
<u>NIERENSTEINE</u>														
44	2000	0,9	15,6	2,4	5,7	0	0	0	0	5,7	0	100	4800	11400
75	2250	0,9	8,5	6,3	7,6	0	0	0	0	7,6	0	100	14175	17100
89	400	0,8	8,8	5	5	0	0	0	0	5	0	100	2000	2000
101	1800	2,4	27,3	50	47,2	0	0	0	0	47,2	0	100	90000	84960
<u>VASKULÄRE VERÄNDERUNGEN DER NIERE</u>														
40	1800	2,0	22	5,2	13,9	7,5	13500	3,9	7146	17,9	22,3	77,7	9360	25020

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
81	500	1,2	12,6	14,3	24,9	0	0	0	0	24,9	0	100	7150	12450
85	1400	1,6	18,7	9	12,5	0	0	0	0	12,5	0	100	12600	17500
29	1500	2,9	20,8	8,4	10,6	0	0	0	0	10,6	0	100	12600	15900
<u>NIEREN + TBC</u>														
102	1900	6,5	58	85	85,8	0	0	0	0	85,8	0	100	161500	163020
<u>DOPPELNIERE MIT DOPPELTEM URETER</u>														
121	1150	1,0	9,6	9	8	0	0	0	0	8	0	100	10350	9200
<u>NIERENZYSTEN</u>														
76	2300	1,2	12,1	8,7	9,5	0	0	0	0	9,5	0	100	20010	21850

F. Graphische Darstellungen

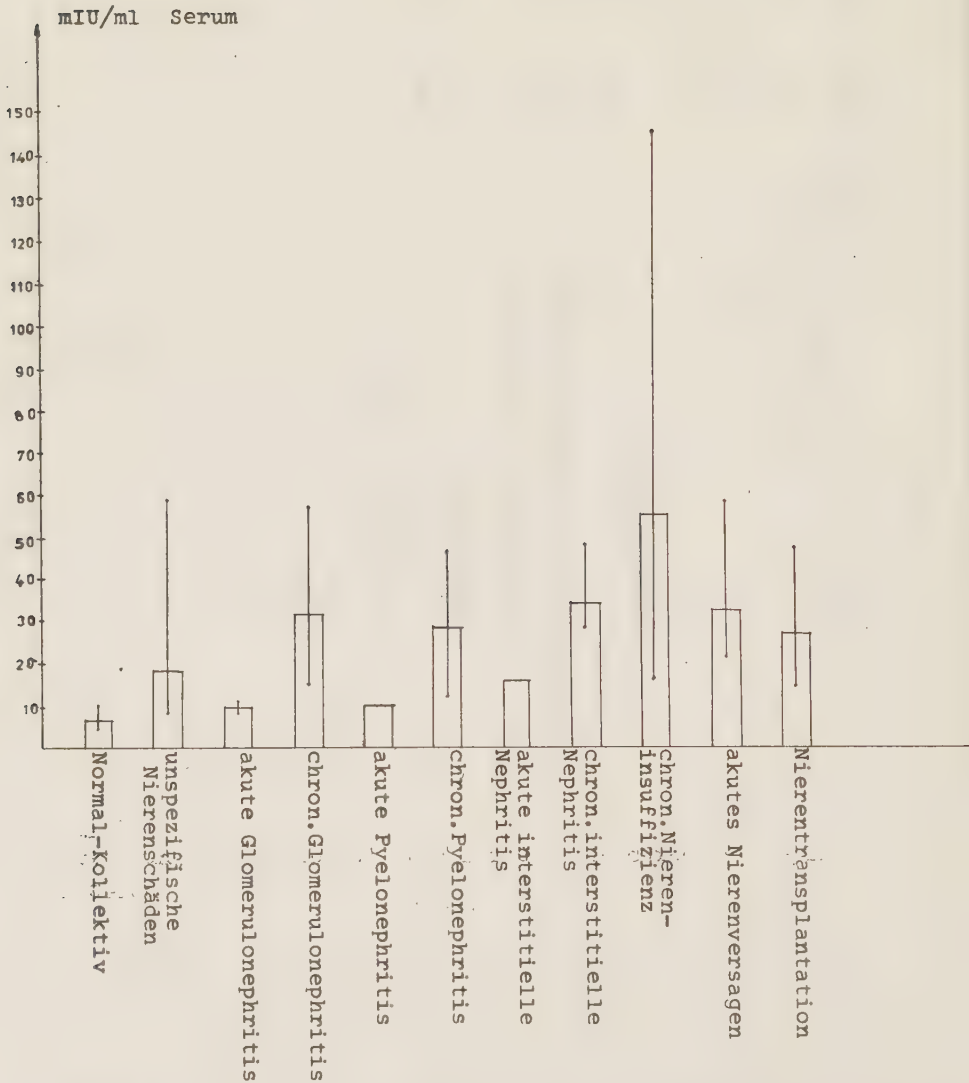


Abb. 1

Verteilung der Inhibitorwerte bei den verschiedenen Nephropathien im Serum

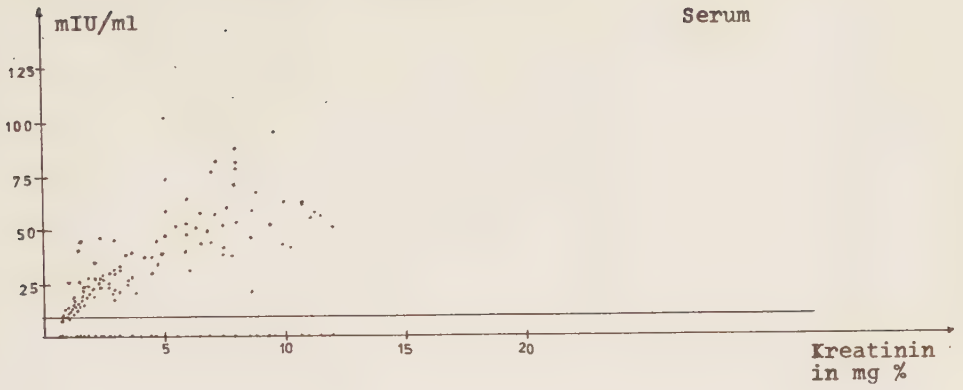
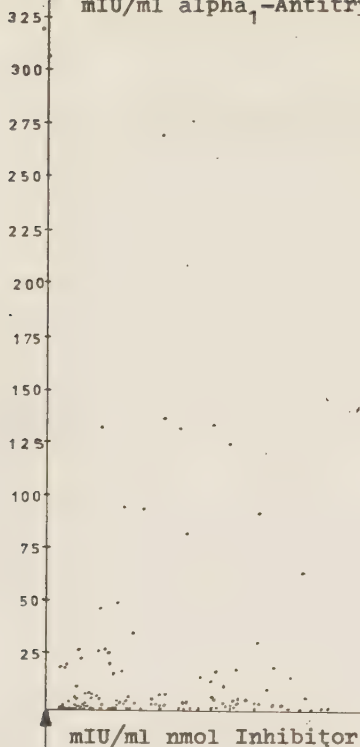


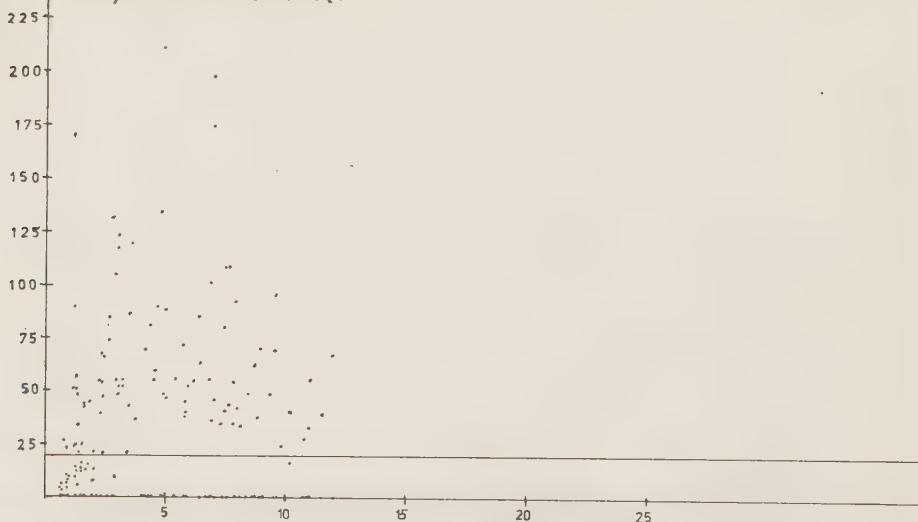
Abb. 2

Seruminhibitorspiegel des niedermolekularen Inhibitors in Abhängigkeit vom Serumkreatininspiegel bei verschiedenen Nephropathien

a)



b)

Abb. 3

- a) α_1 -Antitrypsin-Spiegel im Urin in Abhängigkeit vom Serumkreatininspiegel bei verschiedenen Nephropathien
b) Harninhibitorspiegel (niedermolekularer Inhibitor) in Abhängigkeit vom Serumkreatininspiegel bei verschiedenen Nephropathien

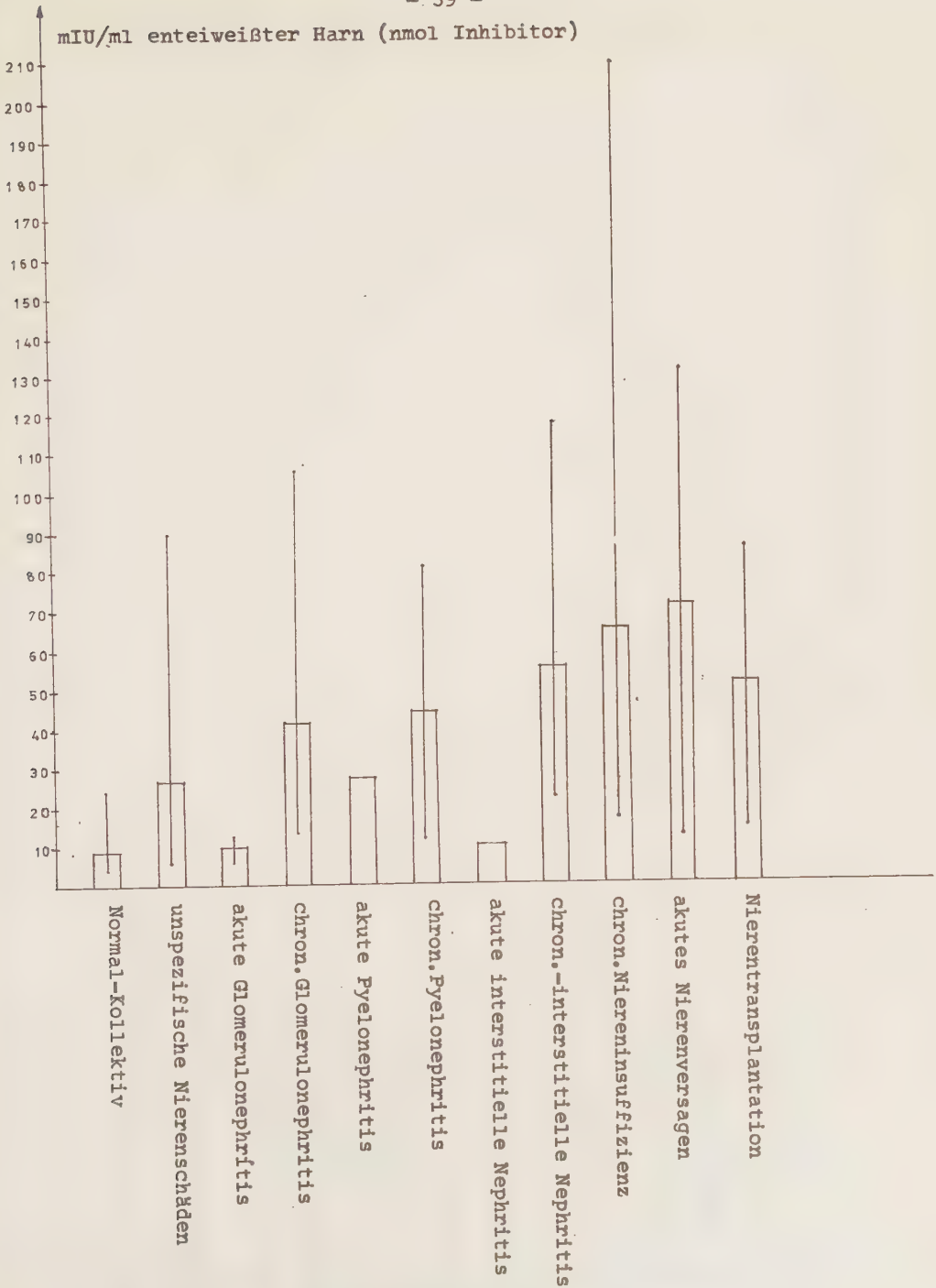


Abb. 4

Schwankungen der Inhibitorkonzentrationen (niedermolekularer Inhibitor) im Harn bei verschiedenen Nephropathien

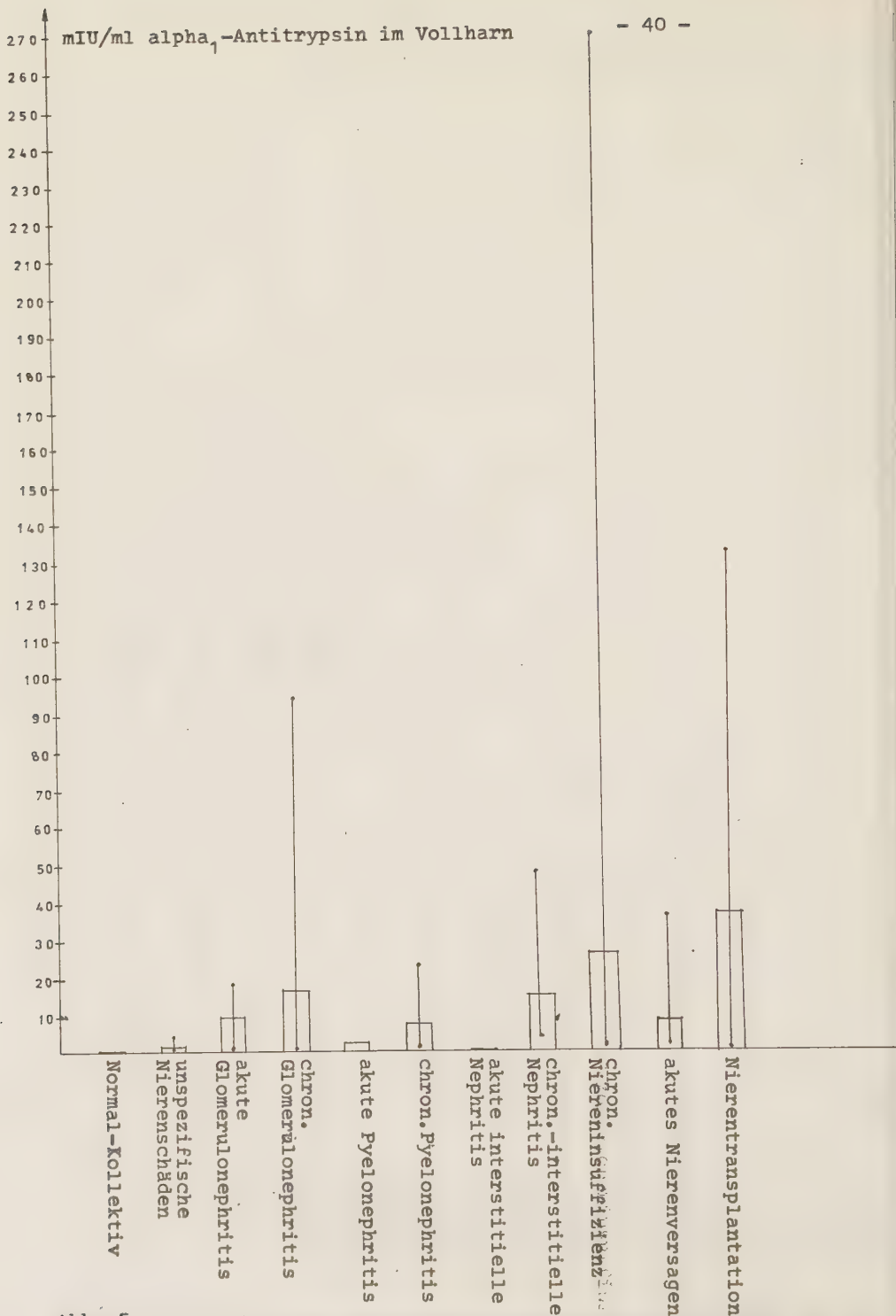


Abb. 5
Schwankungen der α_1 -Antitrypsin-Konzentrationen im Harn bei verschiedenen Nephropathien

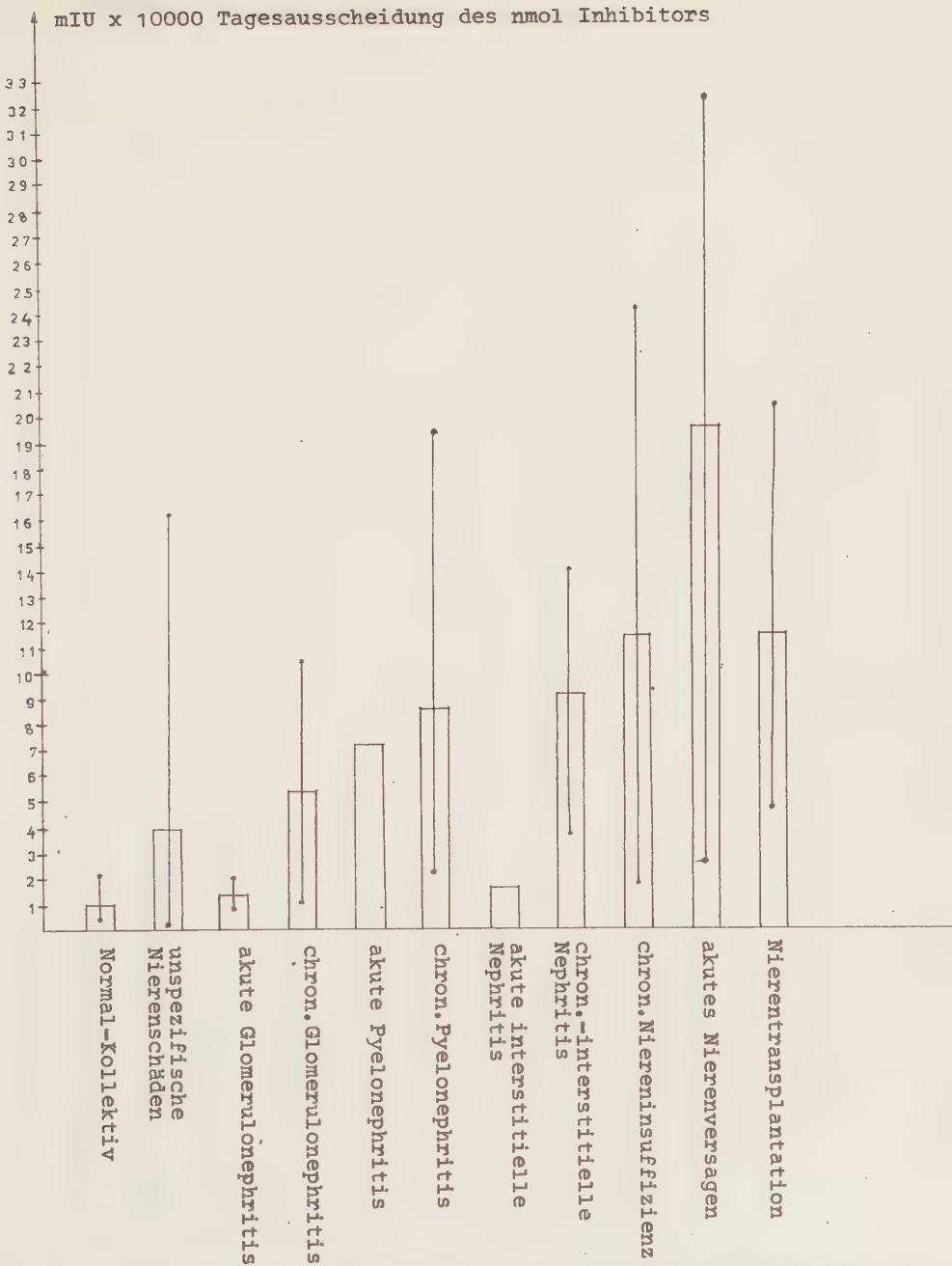


Abb. 6

Schwankungsbreite der Inhibitor-tagesausscheidungen (niedermolekularer Inhibitor) bei verschiedenen Nephropathien

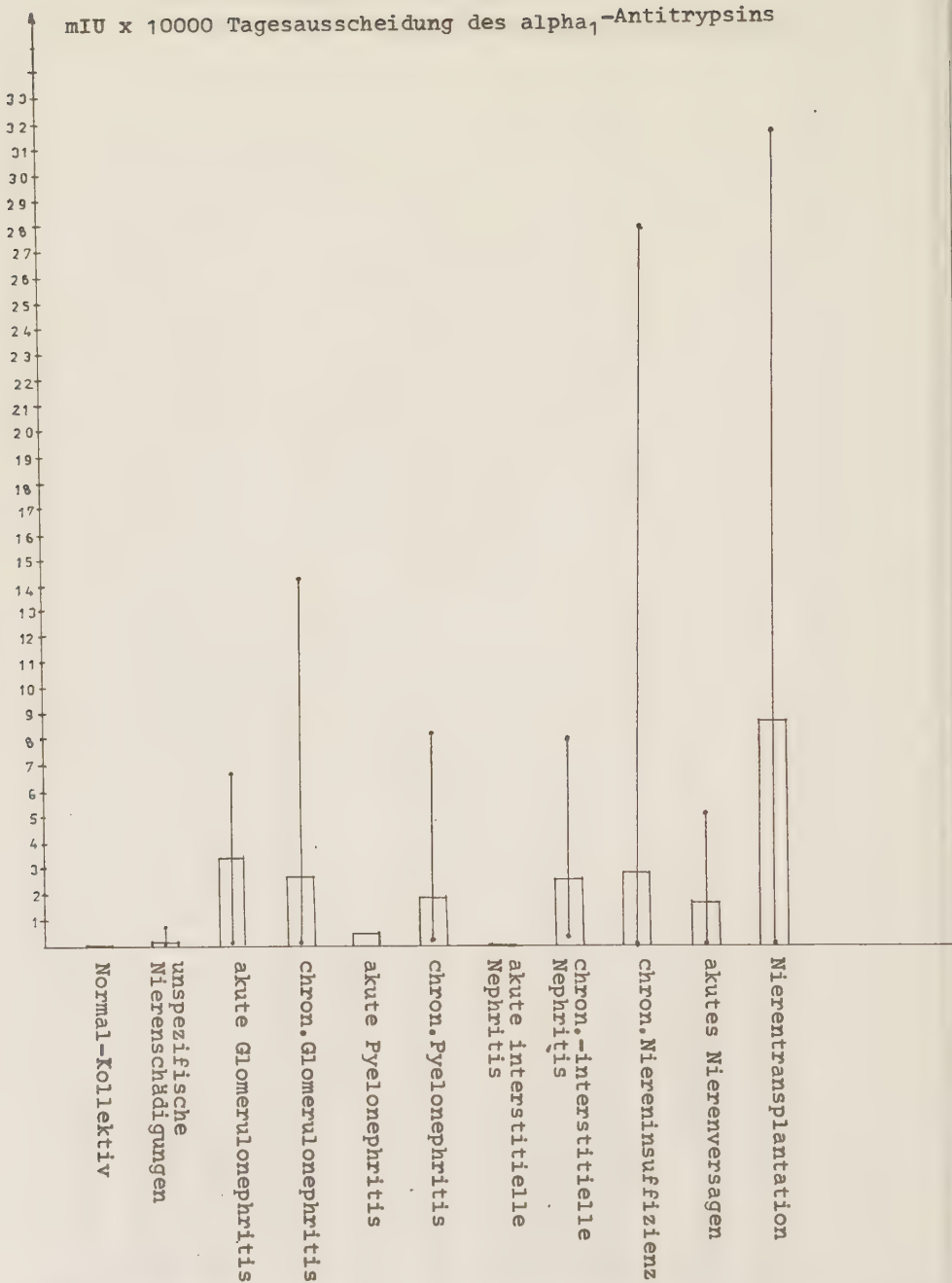


Abb. 7

Schwankungsbreite der α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidungen bei verschiedenen Nephropathien

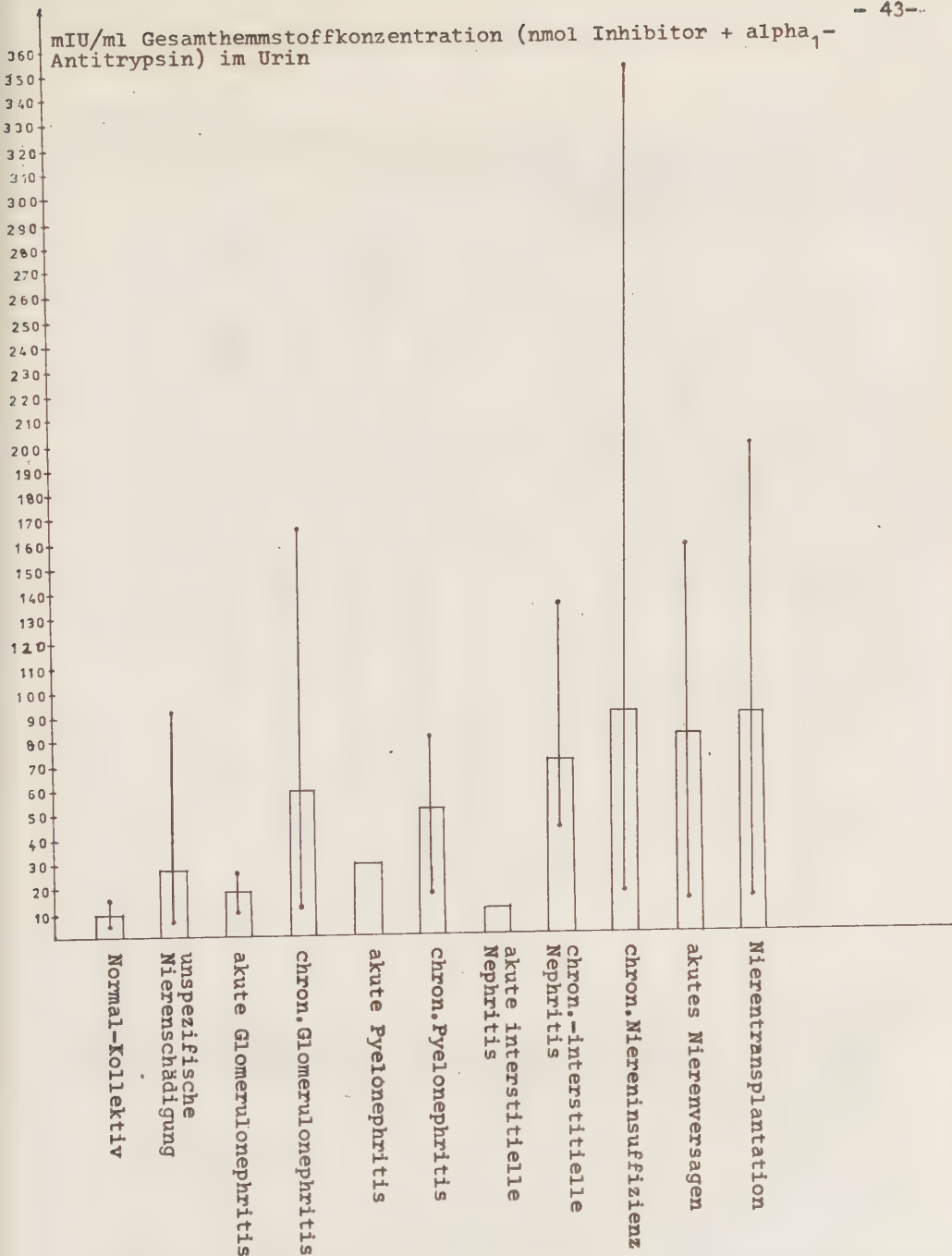


Abb. 8

Schwankungen der Gesamthemmstoffkonzentration (freier niedermolekularer Inhibitor + maskierter niedermolekularer Inhibitor + α_1 -Antitrypsin) im Harn bei verschiedenen Nephropathien

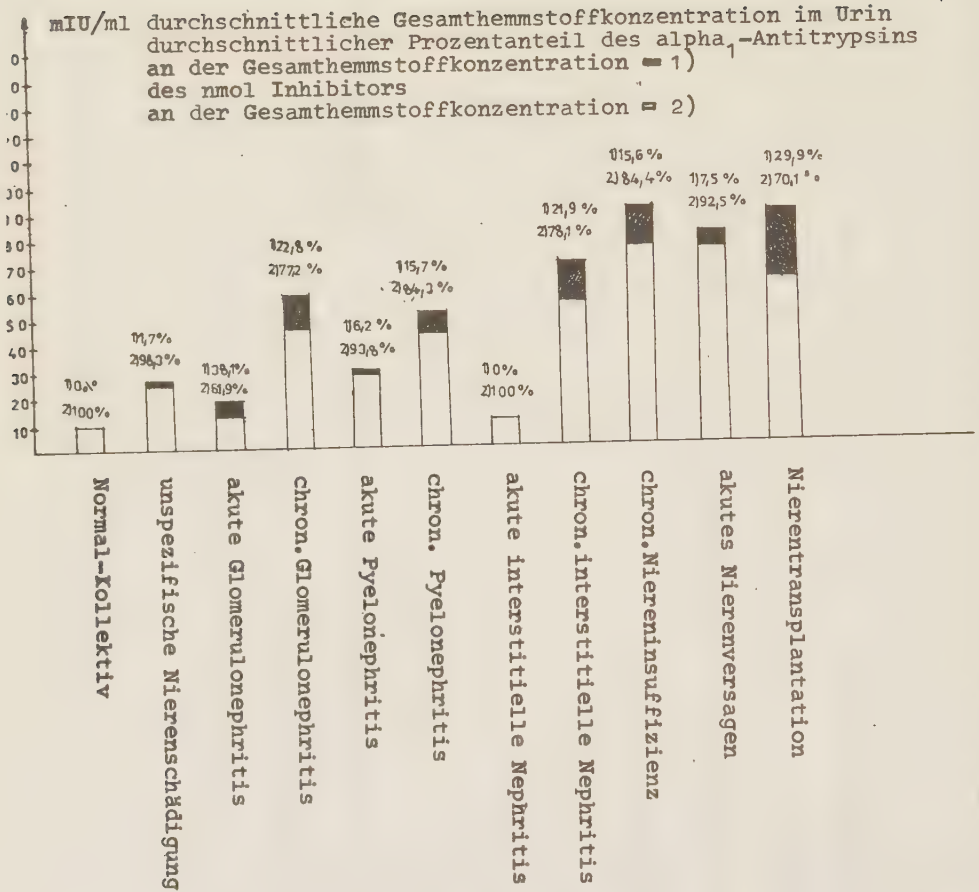


Abb. 9

Durchschnittliche Gesamthemmstoffkonzentration im Harn mit durchschnittlicher prozentualer Verteilung auf die Teilhemmstoffkonzentration des α_1 -Antitrypsins und des niedermolekularen Inhibitors bei verschiedenen Nephropathien

KAPITEL III

G. Experimentieller Teil/Material und Methoden

I. Material (Gewinnung des Untersuchungsmaterials)

Das zur Untersuchung verwendete Material (Blut, Urin) stammte hauptsächlich von Probanden mit manifesten oder latenten vaskulären, glomerulären, tubulären und interstitiellen Nephropathien. Dabei diente als Kriterium für die Auswahl der Patienten neben anderen nierendiagnostischen Untersuchungen und Laborwerten insbesondere die Höhe des Kreatininspiegels. Denn der Serum-Kreatininspiegel ist ein besonders empfindlicher Indikator für eine beginnende Einschränkung der Nierenfunktion. Die Kreatininwerte aller Probanden waren entweder stark erhöht oder lagen an der oberen Grenze der Norm. (Normalwert des Serum-Kreatinins: 0,3 - 1,3 mg%)

- 1) Blutgewinnung: Das Blut wurde durch Stichpunktion aus der vena mediana cubiti entnommen und bei 0 bis +4 Grad C bis zu Versuchsbeginn aufbewahrt.
- 2) Harngewinnung: Der 24-Stunden-Harn wurde durch Sammeln bei freiem Harnfluß oder durch Katheterisierung gewonnen.

II. Methoden

1. Definition der Inhibitoreinheit

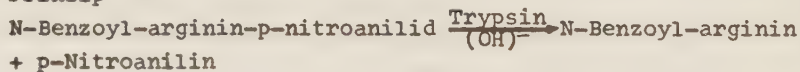
Die Definition der 'Internationalen Inhibitoreinheit' wird von der Definition der 'Internationalen Enzymeinheit' abgeleitet. Nach dem 'Report of Enzym Commission' ist eine Enzymeinheit diejenige Menge eines Enzyms, die unter Standardbedingungen ein Mikromol Substrat/Minute umsetzt. Um einen Vergleich der Meßwerte verschiedener Laboratorien zu ermöglichen, wird die Inhibitoreinheit in Anlehnung an die internationale Enzymeinheit folgendermaßen definiert:⁶¹⁾ Eine internationale Inhibitoreinheit ist diejenige Inhibitormenge, die unter Standardbedingungen die Aktivität einer internatio-

nen Enzymeinheit völlig zu hemmen vermag, d.h. den Substratumsatz um ein Mikromol/Minute zu reduzieren vermag. Die Hemmung ist bei fast allen bekannten Inhibitoren nicht über den ganzen Verlauf der Hemmkurve direkt proportional der Inhibitorkonzentration. Deshalb muß die Messung ungefähr zwischen dreißig und siebenzig prozentigem Hemmgrad im linearen Teil der Kurve vorgenommen werden. (Vergleiche die auf Seite 49 folgende Hemmkurve) Zweckmäßigerweise kann die Inhibitoreinheit deswegen auch so definiert werden: Eine internationale Inhibitoreinheit (IU) ist die Inhibitormenge, die unter Standardbedingungen die Aktivität von zwei Enzymeinheiten zu 50% zu hemmen vermag.

2. Der Trypsinhemmtest

Da praktisch alle bekannten Proteinaseinhibitoren die Eigenschaft der Trypsinhemmung besitzen, wird zur Bestimmung der Anzahl Inhibitoreinheiten in einer Lösung der Trypsinhemmtest verwendet.

a) Prinzip



In einer trypsinkatalysierten hydrolytischen Spaltungsreaktion entsteht aus N-Benzoyl-arginin-p-nitroanilid (BAPNA) N-Benzoyl-arginin und p-Nitroanilin.

Die Freisetzung von p-Nitroanilin aus N-Benzoyl-arginin-p-nitroanilin (BAPNA) wird anhand der Extinktionszunahme bei einer Wellenlänge von 405 nm im Eppendorf-Spektralphotometer direkt verfolgt.

Für konstante Mengen eingesetzten Trypsins und Substrates erhält man im Spektralphotometer eine konstante Extinktionszunahme. Bei Anwesenheit eines Inhibitors ist die Extinktionszunahme verringert. Die Verminderung der Extinktionszunahme ist dem Inhibitorgehalt des Ansatzes bis zu einem bestimmten Konzentrationsverhältnis von Enzym zu Inhibitor linear proportional.

b) Reagenzien

I. Perchlorsäure (70%)

53,5 ml 70-proz. Perchlorsäure mit Wasser ad 1000 ml verdünnen

- II. Triäthanolamin-Puffer (0,2 M; pH = 7,8)
18,6 g Tra und 1,47 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 450 ml Wasser lösen, mit 2 N NaOH auf pH = 7,8 einstellen und mit Wasser auf 500 ml auffüllen.
- III. N^a -Benzoyl-D,L-Arginin-4-nitroanilid (BAPNA)
100 mg BAPNA in 100 ml aqua bidest durch Erwärmen lösen.
- IV. Trypsin (EC 3.4.4.4.) vom Rind behandelt mit TPCCK (50 mU/ml) 5 mg Trypsin in 100 ml 10^{-3} N HCL lösen.
- V. 4N Natronlauge
159,9 g Natriumhydroxid in Wasser lösen und auf 1000 ml auffüllen.
- c) Vorbereitung von Serum- und Harnproben
Jeweils 1 ml Serum bzw. Harn werden mit 0,05 ml Perchlorsäure (70%) versetzt. Das durch die Säure denaturierte und gefällte Eiweiß wird nach 15 Minuten abzentrifugiert, der Überstand filtriert und mit 4N Natronlauge auf pH 7,8 eingestellt. Die auf diese Weise erhaltenen Lösungen werden zur Bestimmung der noch verbliebenen Hemmkapazität verwendet. Auch in nicht modifiziertem Nativharn wird die antiproteolytische Aktivität gemessen.
- d) Bestimmungsansatz für das Eppendorf-Photometer
In einer 3 ml Glasküvette (Schichtdicke 1 cm) werden 0,2 ml Trypsin mit Triäthanolamin-Puffer und der geeigneten Menge der auszutestenden inhibitorhaltigen Lösung auf 2 ml aufgefüllt. Nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten (Reaktionstemperatur 25 Grad C) wird die Reaktion durch Zugabe von 1 ml Substratlösung (BAPNA) gestartet.
- Als Vergleichslösung zur Bestimmung des Leerwertes wird in einer Küvette 0,2 ml Trypsin mit Triäthanolamin-Puffer auf 2 ml aufgefüllt und mit 1 ml BAPNA versetzt. Die Verminderung der Extinktionszunahme des inhibitorhaltigen Testansatzes gegenüber der Vergleichslösung stellt ein genaues Maß für die Hemmaktivität des Inhibitors im Probeansatz dar.

In die Kuvette pipettieren	Inhibitor- ansatz	Leerwert ansatz
Trypsin-Lösung	0,2 ml	0,2 ml
Puffer-Lösung	1,75-1,3 ml	1,8 ml
Probe (Nativharn, enteiweißter Harn, enteiweißtes Serum)	0,05-0,5 ml	
mischen, 5 Minuten vorinkubieren		
Substrat-Lösung BAPNA	1,0 ml	1,0 ml
mischen		

61)

f) Berechnungen

Mit Hilfe des Spektralphotometers wurden die antiproteolytischen Wirkungen der Lösungen (Nativharn, enteiweißter Harn, enteiweißtes Serum) gegen Trypsin bestimmt. Die Berechnung des Inhibitorgehaltes erfolgt nach folgenden Überlegungen:

Eine Inhibitormiliunit (ImU) ist diejenige Inhibitormenge, die 1mU Trypsin zu hemmen vermag. Eine Trypsinmiliunit ist diejenige Trypsinmenge, die 1 Mikromol N-Benzoyl-D, L-arginin-4-nitroanilid pro Minute bei 25°C hydrolysiert. Spektrophotometrisch bewirkt 1 Trypsinmiliunit unter Standardbedingungen eine Extinktionszunahme von $E = 0,00332$ pro Minute bei 25°C. Die Verminderung der Extinktionszunahme um den gleichen Betrag bei Inhibitorzusatz in Trypsinstandardansätzen zeigt 1 ImU an.

Die von einer Trypsinmiliunit unter Standardbedingungen verursachte Extinktionszunahme von $E = 0,00332$ pro Minute ergibt sich aus dem molaren Extinktionskoeffizienten von $9,95 \times 10^3$ ($\frac{1}{\text{Mol} \times \text{cm}}$) des bei der hydrolytischen Spaltungsreaktion entstandenen p-Nitroanilin. Eine Enzymeinheit entspricht einer Extinktionsänderung von 9,95 pro Minute und Milliliter. Für den auf 3 ml

verdünnten Substratansatz ergibt sich deshalb für eine eingesetzte Enzymunit eine Extinktionsänderung von 0,00332 pro Minute.

Der Inhibitorgehalt der eingesetzten Probe ist:

$$\frac{(E/min)_L - (E/min)_T}{0,00332} \quad (ImU) \quad \begin{array}{l} L = \text{Leerwert} \\ T = \text{Testlösung} \end{array}$$

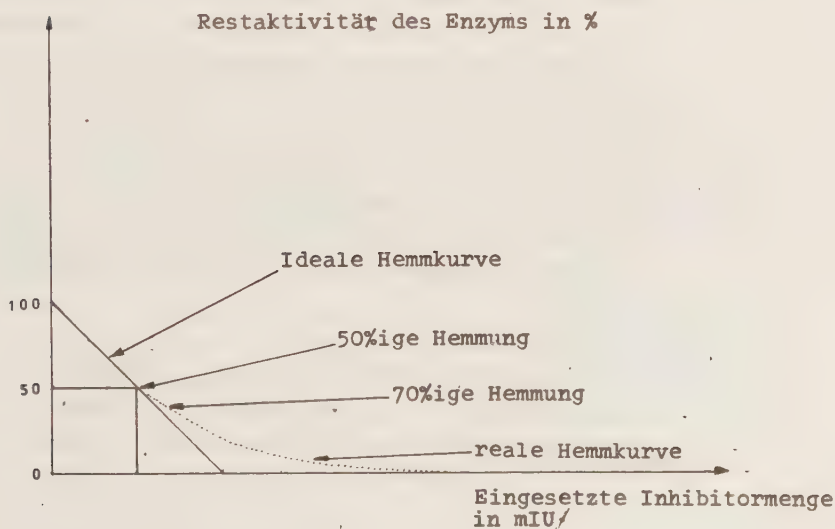
Durch Multiplikation mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor erhält man die Inhibitorkonzentration der untersuchten Inhibitorlösungen (Nativharn, enteweißter Harn, enteweißtes Serum). So berechnet sich die Inhibitorkonzentration in der unverdünnten Untersuchungslösung nach:

$$\frac{(E/min)_L - (E/min)_T}{0,00332} \times V \quad \begin{array}{l} V = \text{Verdünnungsfaktor} \\ (ImU/ml) \end{array}$$

g) Hemmkurve

Werden einer bestimmten Enzymmenge steigende Inhibitormengen (Abszisse) zugesetzt und die verbleibende Enzymrestaktivität (Ordinate) gemessen, so erhält man nach Eintragung dieser Werte in ein Koordinatensystem eine Enzymhemmkurve.

Beispiel einer realen und idealen Hemmkurve:



Eine ideale Hemmkurve käme zustande, wenn sich bei jedem Konzentrationsverhältnis von Enzym zu Inhibitor eine lineare Proportionalität zwischen eingesetzter Inhibitormenge und ihrer Hemmwirkung ergäbe; das ist praktisch nie der Fall. Deshalb spiegelt der im unteren Teil abgeflachte Verlauf der Hemmkurve den wirklichen Zustand wider. Er zeigt einen überproportionalen Inhibitoreinsatz an, der nötig ist, um die gleiche Hemmwirkung wie im oberen Abschnitt der Kurve zu erhalten.

Die Messungen müssen wegen der Enzymdefinition immer im linearen Bereich der Hemmkurve erfolgen, am besten bei 50%iger Hemmung. (Siehe Enzymdefinition S. 46)

3. Immunologische Bestimmung der α_1 -Antitrypsinkonzentration im Harn durch radiale Immundiffusion nach Mancini 62)

(Bestimmung der auf α_1 -Antitrypsin entfallenden Hemmkapazität)

a) Prinzip

Wird eine unbekannte Antigenmenge (α_1 -Antitrypsin) in ein kreisrundes Stanzloch eingebracht, das sich in einer gleichmäßig dünnen Schicht antikörper-durchtränkten (anti- α_1 -Antitrypsin) Agargels befindet, so kommt es zu einer radialen Diffusion des Antigens. Dabei verbindet sich das gesamte Antigen (Zeitdauer mehrere Tage) mit den im Gel enthaltenen Antikörpern unter Bildung eines sichtbaren Präzipitatkomplexes. Die vom Präzipitatkomplex bedeckte Kreisfläche ist dann direkt proportional der Menge des eingebrachten Antigens und umgekehrt proportional der Antikörperkonzentration im Agar-Gel. Die Reaktivität des antikörperhaltigen Gels muß durch Testung mit Antigenlösungen definierten Gehaltes bestimmt werden.

b) Material

α) "M-Partigen- α_1 -Antitrypsin-Immundiffusionsplatten" (Behringwerke) enthalten in einer gebrauchsfertigen Agar-Gel-Schicht monospezifisches Antiserum gegen das Protein,

α_1 -Antitrypsin. Das Antiserum wird durch Immunisierung von Kaninchen, Ziegen oder Pferden gewonnen. Konservierungsmittel: Natriumazid (1mg/ml)

β) Das α_1 -Antitrypsin enthaltende "Protein-Standard-Plasma" (Behringwerke) wird aus einem Mischplasma von ausgewählten gesunden erwachsenen Spendern gewonnen. Das Plasma ist mit Zitratpuffer, Saccharose und Laktose stabilisiert und lyophil getrocknet. Vor Benutzung muß der Inhalt einer Flasche Protein-Standard-Plasma in genau 0,5 ml destilliertem Wasser aufgelöst werden. Zur Vermeidung einer autokatalytischen Proteolyse sind pro ml Plasma 2 Antiplasmineneinheiten eines polyvalenten Proteaseninhibitors zugesetzt.

γ) physiologische Kochsalzlösung: 9g NaCl mit aqua dest auf 1000 ml auffüllen

c) Vorbereitung der Harnproben

Definierte Harnmengen werden durch Druckdialyse (Sartorius Dialysierhülsen) zur Trockne eingeengt, der Rückstand in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und 5 Mikroliter zur α_1 -Antitrypsinbestimmung verwendet. Bei Verdacht auf eine hohe α_1 -Antitrypsinkonzentration wird in einer nicht konzentrierten Probe eine Vorbestimmung durchgeführt, um feststellen zu können, ob konzentriert werden muß.

d) Beschicken der Platten

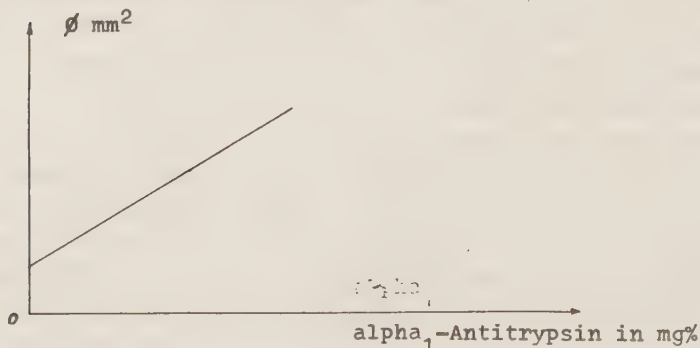
Mit einer Mikroliterspritze werden die Auftragstellen 1-3 mit je 5 Mikroliter geeigneter Standardverdünnungen (1:20, 1:10, 1:5) der α_1 -antitrypsinhaltigen Protein-Standard-Plasma-Lösung gefüllt. Hierbei müssen die chargenabhängigen Standardverdünnungen, die für die Erstellung der Bezugskurve erforderlich sind, als auch die konzentrierten Harnproben auf den deklarierten Meßbereich (5-65 mg%) der Immundiffusionsplatte abgestimmt werden. In die Auftragstelle 4 wird eine Kontrollprobe, z.B. die Standardverdünnung 1:3, eingetragen. In die restli-

chen Auftragstellen werden die zu untersuchenden Harnproben gegeben. Das Probenvolumen beträgt ebenfalls 5 Mikroliter. Nach dem Beschicken werden die Platten bei Raumtemperatur drei Tage stehengelassen.

e) Auswertung

Nach 3 Tagen wird der Durchmesser der entstandenen Präzipitatringe auf 0,1 mm genau ausgemessen (Meßlineal, schwarzer Untergrund, seitliche Beleuchtung). Die quadrierten Ringdurchmesser der mit den Standardverdünnungen erhaltenen Präzipitate werden auf linearem Millimeterpapier als Funktion der Konzentration aufgetragen (Abszisse: Antigen-Konzentration in mg/100 ml; Ordinate: Quadrate der Ringdurchmesser in mm^2). Bei Auftragen der quadrierten Werte erhält man nach Erreichen des Diffusionsendpunktes eine Gerade, deren Schnittpunkt mit der Ordinate zwischen 8,5 - 13,5 mm^2 liegt. Die Konzentration des α_1 -Antitrypsins der jeweiligen Harnprobe kann dann unmittelbar auf der Geraden abgelesen werden. Falls die Harnproben konzentriert wurden, müssen die erhaltenen Werte durch den Konzentrierungsfaktor dividiert werden.

f) graphische Darstellung



g) Berechnungen

Für den Aktivitätsvergleich von α_1 -Antitrypsin und niedermolekularen Inhibitor im Urin, müssen die immunologisch bestimmten Gewichtsmengen von α_1 -Antitrypsin in ImU umgerechnet werden.

$$\text{spez. Aktivität} = \frac{\text{ImU}}{\mu\text{g Protein}} = \frac{\text{Mgw-Trypsin}}{\text{Mgw-}\alpha_1\text{-Antitrypsin}} = \frac{24\ 000}{45\ 000} = 0,53$$

Das bedeutet, daß 1 Mikrogramm α_1 -Antitrypsin 0,53 Mikrogramm Trypsin hemmt, bzw. repräsentiert 1 Mikrogramm α_1 -Antitrypsin 0,53 ImU gegen Trypsin.

4. Berechnung der auf den niedermolekularen Inhibitor entfallenden Hemmkapazität (unter Zuhilfenahme der bei Trypsinhemmtest und Immundiffusionstest erhaltenen Ergebnisse) 39)

Zu dieser Berechnung ist es erforderlich, die Summe von freiem und maskiertem niedermolekularen Inhibitor zu kennen. Die Enteiweißung mit 70%iger Perchlorsäure führt zur Ausfällung von α_1 -Antitrypsin und zur Freisetzung von maskiertem niedermolekularen Inhibitor aus Komplexen mit Proteasen. Die in den Überständen der Enteiweißung nach Neutralisation bestimmte Hemmkapazität beruht dann nur auf niedermolekularem Inhibitor. Die proteolytische Aktivität des maskierten niedermolekularen Inhibitors läßt sich dann mit Hilfe folgender Gleichungen berechnen:

- 1) Gesamthemmstoffkonzentration = α_1 -Antitrypsin + nmol Inhibitor nach der Enteiweißung
- 2) Freier nmol Inhibitor = Gesamthemmung vor Enteiweißung α_1 -Antitrypsin
- 3) Maskierter nmol Inhibitor = 1.-2.

Diese Beziehungen gelten allerdings nur unter der Bedingung, daß α_1 -Antitrypsin nicht in größerer Menge in maskierter Form vorliegt.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Vogel R., Trautschold J., Werle E.: Natürliche Proteaseninhibitoren. (Stuttgart, 1966)
- 2) Mansfeld V., Ziegelhöffner A., Horáková Z., Hladovec J.: Naturwissenschaften 46 (1959), 172
- 3) Weinland E.: Z.Biol. 44, (1903), 1
- 4) Fritz H., Tschesche H., (Hrsg.), Proceedings of the International Research Conference on Proteinase Inhibitors (Munich, Nov. 1970)
- 5) Hochstraßer K., Fritz H.: Z.physiol.Chem., 1976, 356 (1859 - 1863)
- 6) Hochstraßer K., Bretzel G., Wachter E., Heindl S.: Z.physiol. Chem., 1975, 356 (1865 - 1877)
- 7) Blombäck B., Blombäck M., Olsson P.: Action of a Proteolytic Enzyme Inhibitor on Blood Coagulation in Vitro. In: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie. (Stuttgart, 1966)
- 8) Forell M.M.: Gastroenterologia (Basel) 84, (1955), 225
- 9) Gross R., Kronberg G., (Hrsg.) Kininogenspiegel und Blutdruck beim Schock. In: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie. (Stuttgart, 1966)
- 10) Walford R.L., Kickhöfen B.: Arch. Biochem. 98 (1962), 191
- 11) Busch H., Yale J.: Biol. Med. 29 (1957)
- 12) Bernard A., Paget M., Lamelin P.: Arch. Mal. Appar. dig. 49 (1960), 632
- 13) Henning M., Heinkel K., Schön H.: Pathogenese, Diagnostik, Klinik und Therapie der Erkrankungen des exokrinen Pankreas. (Stuttgart, 1964)
- 14) Forell M.M.: Pharmacotherapie 1 (1963)
- 15) Schega W., Schultze R.: Chirurgie, 31 (1960), 195
- 16) Kelly T.R., Bratcher E.P., Falor W.H.: Arch. Surg. 89 (1964), 317
- 17) Beuchelt H.: Med. Z. (1963), 763
- 18) Katz W., Silverstein M., Kobold E.E., Thal A.P.: Surgery 89 (1964), 322
- 19) Jakobsson R.: Scand. J. clin. Lab. Invest. 7 (1955) 57 Suppl. 14
- 20) Schultze H.E., Göllner J., Heide K., Schönberger M., Schwick G.: Z. Naturforsch. 10b, (1955), 463
- 21) Dyce B., Haverback B.J.: Amer. J. Gastroent. 34 (1960), 481

- 22) Kemp J.H., Johnstone J.M.: Brit. J. Cancer 18 (1964), 390
- 23) Phillips L.L., Skrodelis V.: J. clin. Invest. 37 (1958), 965
- 24) Naidoo S.S., Hathon M., Gillman T.: J. clin. Path. 13 (1960), 224
- 25) Ruckstuhl L., Bellet S., Sandberg H., Gelber L.: J. Obstet. Gynec. 84 (1962), 242
- 26) Brakman P., Astrup T.: Scand. J. clin. Lab. Invest. 15 (1963)
- 27) Tsitouris G., Bellet S., Eilberg R., Feinber L., Sandberg H.: Arch. intern. Med. 108 (1961), 208
- 28) Holemans R.: J. appl. Physiol. 18 (1963), 1123
- 29) Nilsson J.M., Bjorkman S.E., Anderson L.: Acta med. scand. 170 (1961), 487
- 30) Paraskevas M., Nilsson J.M., Martinsson G.: Scand. J. clin. Lab. Invest. 14 (1962), 138
- 31) Corell J.T., Sjoerdsma A.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 111 (1962)
- 32) Hochstraßer K., Feuth H., Fall J., Kemkes B.: Das Verhalten der säurestabilen Proteaseninhibitoren im Serum und Harn nach Nierentransplantationen. Klin. Wschr. 52 (1018-1020), (1974)
- 33) Reichert R., Hochstraßer K., Werle E.: Nachweis eines niedermolekularen Proteaseninhibitors im menschlichen Bronchialsekret. Z. Laryng. Rhinol. 51 (1972), 190-193, (Stuttgart)
- 34) Schultze H.E., Heremans J.E.: Molecular Biology of Human Proteins, pp. 817-813 (Amsterdam, 1966)
- 35) Rasche B., Ulmer W.T.: Untersuchungen über die Zusammensetzung des Bronchialschleimes bei chronischer obstruktiver Bronchitis. Pneumonologie 144, 10-32, (1971)
- 36) Hochstraßer K., Haendle H., Reichert R., Werle E.: Über Vorkommen und Eigenschaften eines Proteinaseinhibitors aus menschlichem Bronchialsekret. Z. Physiol. Chem. 352, 954-958 (1971)
- 37) Hochstraßer K., Reichert R., Schwarz S., Werle E.: Isolierung und Charakterisierung eines Proteinaseinhibitors aus menschlichem Bronchialsekret. Z. Physiol. Chem. 353, 221-225, (1972)
- 38) Hochstraßer K., Reichert R., Schwarz S., Werle E.: Detection and Isolation of a second acid stable proteinase inhibitor in human bronchial mucus. Z. Physiol. Chem. 354, (1973)
- 39) Reichert R., Hochstraßer K., Conradi G.: Untersuchungen zur Proteinasehemmkapazität des menschlichen Bronchialsekrets. Pneumonologie 147, 13-20, (1972)

- 40) Hochstraßer K., Schuster R., Reichert R., Heimbürger N.: Nachweis und quantitative Bestimmung von Komplexen zwischen Leukozytenproteasen und alpha₁-Antitrypsin in Körpersekreten und Körperflüssigkeiten, Z.klin. Chem. 10, 104-107, (1972)
- 41) Laurell C.B., Eriksson S.: Scand. J. clin. Lab. Invest. 15, 132, (1963)
- 42) Meiers H.G., Beisenherz D., Brüster H., Straßburger D., Greuel H.: Alpha₁-Antitrypsin-Defekt und Lungenehmpysem. Dtsch. med. Wschr. 93, 1633, (1968)
- 43) Varpela E., Saris N.E.: Hereditary alpha₁-Antitrypsin Deficiency. Ann. of. Clin. Res. 3, 46, (1971)
- 44) Bauer J., Reich Z.: Über die antiproteolytische Wirkung des Harns. Med. Klin. 46, 1744, (1909)
- 45) Döblin A.: Über den Nachweis von Antitrypsin im Urin. Z. Immunitätsforsch. 4, 229, (1910)
- 46) Werle E., Vogel R.: In: Leistungen und Ergebnisse der neuzeitlichen Chirurgie. (Stuttgart, 1958)
- 47) Mayehiro A.: Yokohama med. Bull. 11, 111, (1960)
- 48) Faarvang H.J.: Acta endocr. (Kbh.) 31, 117 (1959)
- 49) Hochstraßer K., Feuth H., Fall J., Kemkes B.: Säurestabile Proteaseninhibitoren im Blutplasma bei verschiedenen Nephropathien. Klin. Wschr. 52, 1015-1017 (1974)
- 50) Hochstraßer K., Feuth H., Steiner O.: Zur Charakterisierung der säurestabilen Proteaseninhibitoren aus Humanplasma. Z. physiol. Chem. 354, 927 (1973)
- 51) Hochstraßer K., Bretzel G., Feuth H., Hilla W., Lemperth, K.: Z. physiol. Chem. 1976 in Druck
- 52) Bretzel G., Hochstraßer K., Hilla W.: Z. physiol. Chem., 1976, in Druck
- 53) Boylan J.W., Deetjen P., Kramer K.: Niere und Wasserhaushalt. In: Gauer/Kramer/Jung/, Physiologie des Menschen. Bd. 7 (1970)
- 54) Buddecke E.: Grundriß der Biochemie. (Berlin, 1971)
- 55) Maunsbach A.B.: J. Ultrastruct. Res. 16, 1, (1966)
- 56) Gross R., Schölmerich P.: Lehrbuch der Inneren Medizin. 3.Aufl., (Stuttgart, 1973)
- 57) Schettler G.: Innere Medizin. 3.Aufl., (Stuttgart, 1972), Bd. 1 und 2
- 58) Kettler L.H.: Lehrbuch der speziellen Pathologie. 2.Aufl., (Jena, 1970)
- 59) Eder M., Gedigk P.: Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie. (Berlin, 1974)
- 60) Siegenthaler W.: Klinische Pathophysiologie. 2.Aufl., (Stuttgart, 1973)

- 61) Fritz H., Trautschold I., Werle E.: In: Methoden der Enzymatischen Analyse. 2.Aufl., Bd. I, (1970)
- 62) Mancini G., Carvonara A.O., Heremans J.F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry 2, 335, (1965)

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitend wurde ein allgemeiner Überblick über Vorkommen, Wirkung und Funktion natürlicher Proteaseninhibitoren gegeben. Auch ihre pathophysiologische und therapeutische Bedeutung wurde dargelegt.

An 110 Patienten mit verschiedenen Nephropathien wurde das Verhalten der antiproteolytischen Aktivität (α_1 -Antitrypsin; niedermolekularer säurestabiler Inhibitor) im Urin und die Inhibitortagesausscheidungen bestimmt. Dabei ergab sich, daß der größte Teil der Gesamthemmkapazität im Urin in den meisten Fällen (87%) auf den niedermolekularen säurestabilen Inhibitor entfällt, während nur in 13% der Fälle das Gleichgewicht zugunsten des α_1 -Antitrypsin verschoben ist. In ungefähr einem Drittel der Fälle konnte überhaupt keine α_1 -Antitrypsin-Tagesausscheidung nachgewiesen werden. Einige Krankheitsbilder imponierten durch charakteristische hohe Inhibitorwerte.

Kurt Brettreich

München, den 20.3.1976

LEBENS LAUF

Geburtsdatum: 28.11.1949
Geburtsort: München
Eltern: Kurt Brettreich
Elisabeth Brettreich, geb.Eierstock
Familienstand: ledig
Ausbildung:
1956 - 1960 Volksschule am Pfanzeltplatz, München
1960 - 1961 Oberrealschule an der Frühlingsstrasse, München
1961 - 1964 Gymnasium Tegernsee
1964 - 1969 Erasmus-Grasser-Gymnasium, München
1969 Reifeprüfung am Erasmus-Grasser-Gymnasium,
München
1970 - 1971 Studium der Humanmedizin an der Westfälischen
Wilhelmsuniversität, Münster
1971 Naturwissenschaftliche Vorprüfung an der West-
fälischen Wilhelmsuniversität, Münster
1971 - 1976 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximili-
an-Universität, München
1973 Ärztliche Vorprüfung an der Ludwig-Maximilian-
Universität, München
1976 Staatsexamen an der Ludwig-Maximilian-Univer-
sität, München

